

**Aus der Klinik und Poliklinik für Psychiatrie und Psychotherapie
der Ludwig-Maximilians-Universität München**

ehem. Direktor: Prof. Dr. med. Hans-Jürgen Möller

Direktor: Prof. Dr. med. Peter Falkai

**Gedächtnisleistung und Schizophrenie in Assoziation mit einem
Polymorphismus des Neuropeptid Y-Gens**

Dissertation

zum Erwerb des Doktorgrades der Zahnheilkunde

an der Medizinischen Fakultät

der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Eleni Seifert-Merezas

aus Bratislava

2013

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. Dan Rujescu

Mitberichterstatter: Prof. Dr. med. Franz Joseph Freisleder

Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter: Dr. rer. biol. hum. Ina Giegling

Dekan: Prof. Dr. med. Dr. h.c.M. Reiser, FACR, FRCR

Tag der mündlichen Prüfung: 31. Januar 2013

Meinen Eltern gewidmet

Inhaltsverzeichnis

1. EINLEITUNG	1
1.1 Gedächtnis	1
1.1.1 Das sensorische Gedächtnis	1
1.1.2 Das Kurzzeitgedächtnis	2
1.1.3 Das Langzeitgedächtnis	4
1.1.4 Neuronale Grundlagen des Gedächtnisses	4
1.2 Genetik und Gedächtnis	6
1.2.1 Familien-, Adoptions- und Zwillingsstudien	8
1.2.2 Molekulargenetik	8
1.3 Schizophrenie	10
1.3.1 Definition	10
1.3.2 Symptomatik	11
1.3.3 Klassifikation und diagnostische Merkmale der Schizophrenie	11
1.3.4 Epidemiologie	13
1.3.5 Ätiologie	13
1.3.6 Genetik und Schizophrenie	15
1.4 Kognitive Defizite bei der Schizophrenie.....	16
1.4.1 Gedächtnisdefizite bei der Schizophrenie.....	18
1.5 Das Neuropeptid Y (NPY).....	20
1.5.1 Das Neuropeptid Y-Gen	21
1.5.2 Struktur des NPY	23
1.5.3 Vorkommen des NPY im Organismus	24
1.5.4 Signalübertragung des NPY.....	24
1.5.5 Wirkungen des NPY	26
1.6 NPY und Gedächtnis	28
1.7 NPY und Schizophrenie	31
1.8 Fragestellung	35
2. MATERIAL UND METHODEN	36
2.1 Studiendesign.....	36
2.1.1 Vorbedingungen der Studiendurchführung.....	36
2.1.2 Studienteilnehmer	36
2.1.3 Klinisches Interview der Kontrollprobanden	38
2.1.4 Auswahlverfahren der schizophrenen Patienten	40
2.2 Die Wechsler Memory Scale Revised (WMS-R).....	42

2.2.1	Die Untertests der WMS-R.....	42
2.2.2	Auswertung der WMS-R	48
2.2.3	Statistische Eigenschaften der WMS-R	48
2.3	Laborverfahren	49
2.3.1	DNA-Extraktion.....	49
2.3.2	DNA-Konzentrationsmessung	51
2.3.3	Genotypisierung	54
2.4	Statistische Auswertung	64
3.	ERGEBNISSE	66
3.1	Genotyp	66
3.1.1	Ergebnisse der Genotypen des NPY Polymorphismus rs16118 in den WMS-R Leistungsaspekten	67
3.1.2	Ergebnisse der Genotypen des NPY Polymorphismus rs16118 in den WMS-R Subtests.....	68
3.2	Allel.....	69
3.2.1	C-Allelträger (CC+CG) gegenüber homozygoten G-Allelträgern (GG)	69
3.2.2	G-Allelträger (GG+CG) gegenüber homozygoten C-Allelträgern (CC)	70
3.2.3	Ergebnisse der Allele des NPY Polymorphismus rs16118 in den WMS-R Leistungsaspekten	70
3.2.4	Ergebnisse der Allele des NPY Polymorphismus rs16118 in den WMS-R Subtests.....	73
4.	DISKUSSION	75
4.1	Diskussion der Methoden	76
4.2	Diskussion der Ergebnisse.....	79
4.3	Ausblick auf zukünftige Untersuchungen	88
	ZUSAMMENFASSUNG	91
	LITERATURVERZEICHNIS.....	93
	ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	111
	DANKSAGUNG.....	113

1. Einleitung

1.1 Gedächtnis

Der Begriff „Gedächtnis“ umfasst im neurokognitiven Sinne die zerebralen Vorgänge der Aufnahme, Speicherung, Erinnerung und Wiedergabe von Information (Rohkamm, 2003), wobei unterschiedliche anatomische Strukturen beteiligt sind. Verschiedene Gedächtnisprozesse werden im Hinblick auf Eingang und Speicherung von Information sowie deren Erhalt und Abrufung unterschieden. Je nach Dauer der Informationsspeicherung lässt sich das Gedächtnis in drei grobe Systeme einteilen (s. Abb. 1, S. 2): 1. das sensorische Gedächtnis, 2. das Kurzzeitgedächtnis (auch Arbeitsgedächtnis) und 3. das Langzeitgedächtnis. Im Folgenden sollen die Unterschiede der Systeme näher erläutert werden.

1.1.1 Das sensorische Gedächtnis

Information, die das Gedächtnis aus der Umwelt über die Sinnesorgane erreicht, wird zunächst im sensorischen Gedächtnis (auch sensorisches Register genannt; früher: Ultrakurzzeitgedächtnis) zwischengespeichert. Das sensorische Gedächtnis wird nach der Art der Sinnesaufnahme unterteilt in das ikonische Gedächtnis (für visuelle Reize) und das echoische Gedächtnis (für auditive Reize).

Die Aufenthaltsdauer der Informationen im sensorischen Gedächtnis beträgt einige Millisekunden (visuell) bis Sekunden (auditiv). Außerdem sind Informationen im sensorischen Gedächtnis schnell durch neue Sinneseindrücke aus der Umwelt ersetzbar (Zimbardo & Gerrig, 1999; Markowitsch, 2002). Im sensorischen Register wird entschieden, ob die Information wieder verworfen wird oder dauerhaft gespeichert wird. Soll eine dauerhafte Speicherung erfolgen, beginnt der Prozess der so genannten Gedächtnis-Konsolidierung (Dudai, 2004).

1.1.2 Das Kurzzeitgedächtnis

Im Kurzzeitgedächtnis wird eine relativ geringe Quantität von Informationen in einem aktiven, jederzeit abrufbaren Stadium bereitgehalten. Eine wichtige Funktion des Kurzzeitgedächtnisses besteht zudem darin, eine erste Aufarbeitung und Enkodierung für das explizite Einprägen von Erinnerungen zu liefern. Es bezieht sich auf die kurzfristige Speicherung von Information, die man bewusst und explizit erinnern kann (Zimbardo & Gerrig, 1999; Linden, 2007).

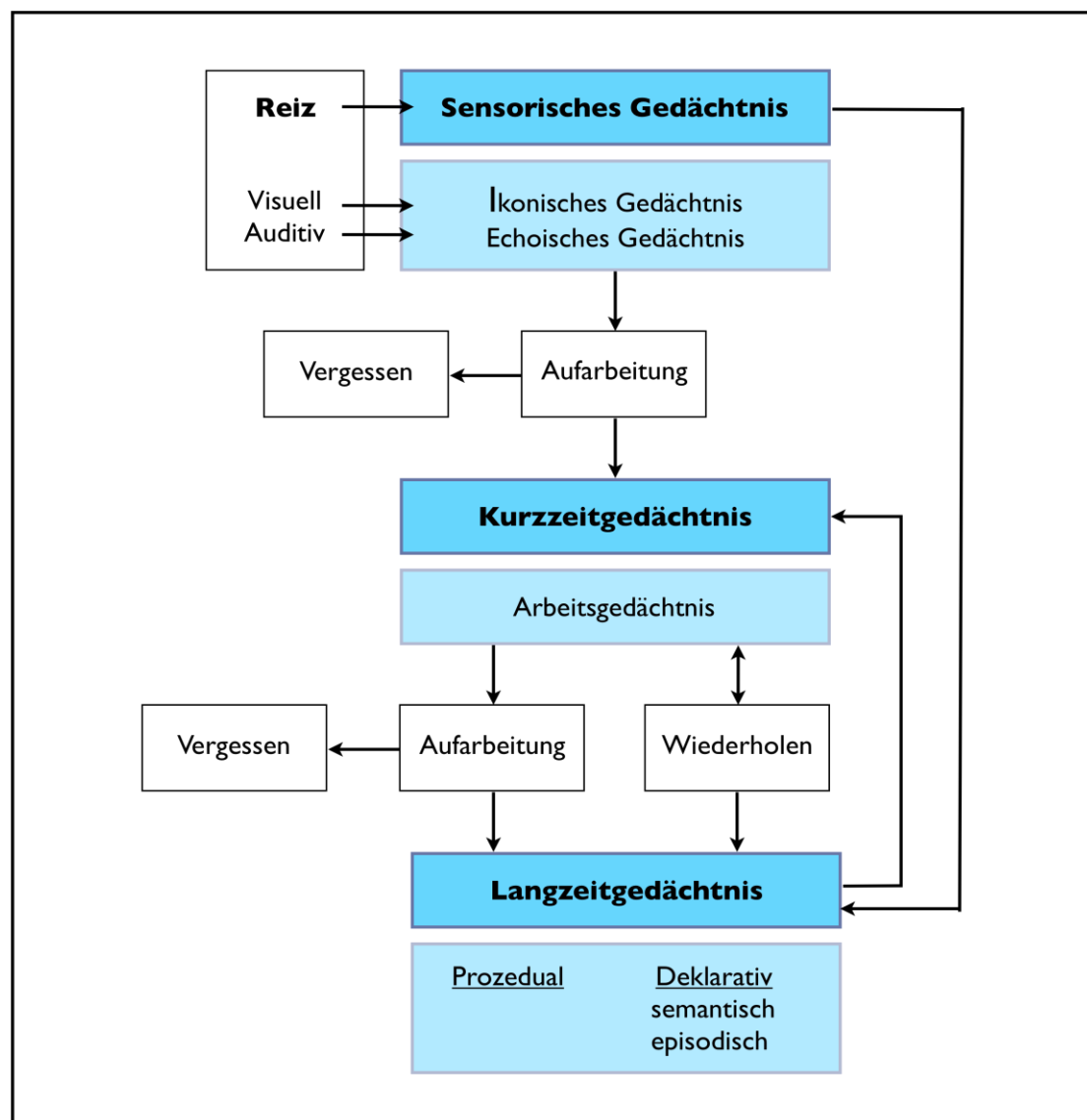


Abb. 1 Die Hauptmerkmale des Gedächtnisses (modifiziert nach Zimbardo & Gerrig, 1999).

Das Kurzzeitgedächtnis hat eine relativ begrenzte Kapazität. Es kann lediglich $7(\pm 2)$ Informationseinheiten speichern (Miller, 1956), die innerhalb von Sekunden wieder aus dem Gedächtnis gelöscht werden, falls sie nicht ständig wiederholt werden. In neuropsychologischen Untersuchungen konnte ebenfalls gezeigt werden, dass die durchschnittliche Speicherkapazität ca. 7 Einheiten beträgt, wobei sich herausgestellt hat, dass die Informationen in so genannten Bündeln (engl. *chunks*) gruppiert werden müssen, um gespeichert zu werden (Cowan et al., 2005). Das bedeutet z.B., dass die 7-stellige Nummer 4308028 als „430“-„80“-„28“ eingeprägt wird (Linden, 2007). Cowan et al. zeigten, dass etwa 4 *chunks* gespeichert werden können (Cowan, 2001), es aber davon abhängt, wie einfach die Informationseinheiten in *chunks* gruppiert werden können. Durch das Wiederholen der Information kann diese exakter entschlüsselt werden, wodurch es wahrscheinlicher wird, dass die Information im Kurzzeitgedächtnis bleibt bzw. dort aufgenommen wird. Im Gegenzug führt das Auftreten von konkurrierenden Informationen dazu, dass ältere Kurzzeitgedächtnisinhalte ersetzt werden, wenn die neuen Reize Aufmerksamkeit auf sich ziehen (Zimbardo & Gerrig, 1999; Cowan, 2008).

Diese Vorgänge beschreiben die Rolle des Kurzzeitgedächtnisses bei der expliziten Einprägung neuer Gedächtnisinhalte. Zudem besteht eine wichtige Rolle beim Abrufen bereits vorhandener Erinnerungen. Das Kurzzeitgedächtnis wird daher auch oft als Arbeitsgedächtnis/Arbeitsspeicher bezeichnet, weil Informationen dort verarbeitet, neu bewertet und strukturiert werden. Diese Informationen können sowohl aus dem sensorischen Gedächtnis als auch aus dem Langzeitgedächtnis dorthin gelangen. Kurz- und Arbeitsgedächtnis sind schwer voneinander abzugrenzen (Linden, 2007; Cowan, 2008). Baddeley beschreibt das Arbeitsgedächtnis als eine zentrale Exekutive, die einen viso-spatialen und einen auditiven Teil verwaltet und die Information aus beiden Systemen miteinander verknüpfen kann. Ersterer ist für die Verarbeitung von visuell-räumlichen Reizen, der Zweite für verbale Informationen, Lautverständnis und Lautäußerung zuständig (Baddeley, 1998; Baddeley, 2000).

1.1.3 Das Langzeitgedächtnis

Das Langzeitgedächtnis stellt das dauerhafte Speichersystem für Information des Gehirns dar. Es ist „Speicher“ für alle Erfahrungen, Informationen, Emotionen, Fertigkeiten, Wörter, Begriffsklassen, Regeln und Urteile, die aus dem sensorischen und dem Kurzzeitgedächtnis angeeignet werden (Zimbardo & Gerrig, 1999; Markowitsch, 2002; Calabrese & Markowitsch, 2003).

Nach der Art der Verarbeitung wird das Langzeitgedächtnis in das deklarative (explizite) und das nicht-deklarative (prozedurale, implizite) Gedächtnis unterteilt. Beide Gedächtnisformen sind unabhängig voneinander und werden verschiedenen anatomischen Gehirnarealen zugeordnet (Thompson & Kim, 1996; Richter-Levin & Akirav, 2003).

Das deklarative (explizite) Gedächtnis speichert Fakten oder Ereignisse, die bewusst wiedergegeben werden können. Es wird unterteilt in das episodische Gedächtnis (eigene Erfahrungen und Lebens-Ereignisse) und das semantische Gedächtnis (Wortbedeutungen und allgemeines Fachwissen, Weltwissen)

Das prozedurale (nicht-deklarative, implizite) Gedächtnis dagegen wird verwendet, um Fertigkeiten zu erwerben, zu speichern und bei Bedarf anzuwenden. Die gespeicherten Informationen sind nicht unmittelbar bewusst, es besteht aber ein ständiger Zugriff darauf (z.B. gehen, Radfahren, tanzen, usw.) (Pritzel et al., 2003).

1.1.4 Neuronale Grundlagen des Gedächtnisses

Bei der Informationsverarbeitung im Gedächtnis werden neue Informationen initial im Neokortex aufgenommen und durch den Hippocampus und weitere Strukturen im medialen Temporallappen zu einem Gedächtnistrakt zusammengebunden (Squire, 1992; Axmacher et al., 2008). Information wird aus einem, zunächst labilen, neuronalen System in einen permanenten Status überführt. Der Begriff Konsolidierung beschreibt diesen Prozess der Gedächtnisstabilisierung (Frankland & Bontempi, 2005).

1. Einleitung

Es wird zwischen einer schnellen und einer langsamen Form der Gedächtniskonsolidierung unterschieden. Für die initiale Stabilisierung der Erinnerung in den Hippocampusstrukturen sind morphologische Veränderungen notwendig. Diese beinhalten sowohl das Heranwachsen neuer, als auch die Restrukturierung bereits bestehender synaptischer Verbindungen und finden innerhalb der ersten Stunden der Konsolidierung statt (Dudai, 2004; Frankland & Bontempi, 2005).

Synapsen werden als Antwort auf lern-assoziierte Aktivität modifiziert, um anschließend in einen stabilen Zustand überführt zu werden, was zur Persistenz des Gedächtnistrakts führt (McGaugh, 2000; Routtenberg & Rekart, 2005). Durch eine synaptische Erregung wird hierbei ein Aktionspotential ausgelöst, welches zur Aktivierung verschiedener Signalkaskaden führt. Auf Proteinebene kommt es hierbei zur Rekrutierung von *second-messenger*-Systemen, zur Aktivierung von Transkriptionsfaktoren und letztendlich zur Synthese von für strukturelle Veränderungen notwendigen Proteinen. Dadurch wird die Synthese von Rezeptormolekülen und Enzymen für den Transmitterauf- und -abbau sowie von Strukturproteinen reguliert (Abarbanel et al., 2003; Frankland & Bontempi, 2005). Die Kurzzeit-Plastizität wird unter anderem durch die Post-Translationsmodifizierung von Proteinen vermittelt, wohingegen die Langzeitveränderung durch lernabhängige Proteinsynthese stabilisiert wird, indem neu synthetisierte Proteine an die kürzlich aktivierten synaptischen Spalten geleitet werden und dadurch einen spezifischen und permanenten Zustand erreichen. Bei jeder neuen Langzeiterinnerung werden neue Proteine gebildet. Das durch diese stabilisierten Proteine gebildete Netzwerk dient als die neurale Repräsentation des Langzeitgedächtnisses (Kandel, 2001; Sweatt, 2001; Routtenberg & Rekart, 2005).

Die Konsolidierung kann jedoch auch auf Systemebene stattfinden. In diesem Fall findet ein stufenweiser und meist langsamerer Prozess der Reorganisation von Gehirnstrukturen statt, welche das Gedächtnis unterstützen. Sowohl deklarative, als auch prozedurale Erinnerungen zeigen hierbei zeitabhängige Strukturveränderungen im Gehirn (Frankland & Bontempi, 2005).

1.1.4.1 Dopamin und Arbeitsgedächtnis

Der präfrontale Kortex wird als anatomisches Korrelat des Arbeitsgedächtnisses im Gehirn gesehen (Goldman-Rakic, 1996; Fletcher & Henson, 2001). Der Neurotransmitter Dopamin beeinflusst die neuronale Aktivität im präfrontalen Kortex maßgeblich (Yang & Seamans, 1996). Dies zeigt sich unter anderem darin, dass veränderte Dopaminkonzentrationen im präfrontalen Kortex mit schlechteren Arbeitsgedächtnisleistungen assoziiert sind, was hauptsächlich in Tierversuchen untersucht wurde (Arnsten & Robbins, 2002). Im Tierversuch mit Ratten konnte gezeigt werden, dass kognitive Fähigkeiten mit der Dopaminkonzentration im präfrontalen Kortex assoziiert sind. Niedrigere Dopaminkonzentrationen führten zu schlechteren Ergebnissen (Luine et al., 1990). Weiterhin konnte gezeigt werden, dass lokale Injektionen von selektiven D₁-Dopamin-Antagonisten im präfrontalen Kortex von Rhesusaffen und Ratten dosisabhängige Defizite des Arbeitsgedächtnisses hervorrufen können (Sawaguchi & Goldman-Rakic, 1991; Seamans et al., 1998). Zudem konnte eine weitere Studie nachweisen, dass die Arbeitsgedächtnisleistung von Affen nach Injektion von D₁-Dopamin-Agonisten verbessert wird (Cai & Arnsten, 1997). Der Neurotransmitter Dopamin ist bei unterschiedlichen neuropsychiatrischen Erkrankungen maßgeblich involviert, vor allem der Formenkreis der Psychosen, und hierbei ist vor allem die Schizophrenie zu nennen (s. Kapitel 1.3.5.).

1.2 Genetik und Gedächtnis

Ein Generalfaktor der Intelligenz (g) wurde erstmals vor etwa einem Jahrhundert von Spearman beschrieben. Er verglich dabei Ergebnisse von Probanden bei verschiedenen Leistungstests und fand, dass Probanden, die in einem Test gut waren, tendenziell auch in anderen Tests gut abschnitten (Spearman, 1904).

Es wird allgemein angenommen, dass es einen bedeutenden erblichen Einfluss auf kognitive Fähigkeiten gibt. Der Faktor g, der die generellen kognitiven Fähigkeiten beschreibt, ist eine hoch erbliche Einheit. Mehrere Studien mit mehr als 8000 Eltern-Kind-Paaren, 25000 Geschwisterpaaren, 10000 Zwillingspaaren und hunderten Adoptivfamilien kommen zusammen zu der Folgerung, dass genetische Faktoren

einen wesentlichen Einfluss auf g haben (Plomin et al., 2001). Es wird geschätzt, dass etwa die Hälfte der Varianz der generellen kognitiven Fähigkeiten auf genetische Unterschiede zwischen Einzelnen zurückzuführen sind (Loehlin, 1989; McClearn et al., 1997). Die Erblichkeit von g wird auf etwa 50% geschätzt, wobei sie mit dem Alter steigt, von 20% in der frühen Kindheit auf 40% im Kindesalter, 50% in der Pubertät und schließlich auf 60% im Erwachsenenalter (McClearn et al., 1997; Plomin & Craig, 1997).

Ebenso werden die speziellen kognitiven Fähigkeiten durch genetische Variationen beeinflusst, wenn auch nicht in so einem hohen Maß wie für die generellen kognitiven Fähigkeiten (McClearn et al., 1997). Jede einzelne Funktion ist jedoch in einem anderen Ausmaß erblich, was auf den Einfluss verschiedener Gene oder Genloci hinweist. Die Gruppe um McClearn untersuchte ältere Zwillingspaare und zeigte unterschiedliche genetische Einflüsse auf die verschiedenen kognitiven Fähigkeiten. Für die allgemeine Kognition konnten sie eine Erblichkeit von 62% nachweisen, 55% für verbale Fähigkeiten, 32% für räumliches Erfassungsvermögen, 62% für die Geschwindigkeit kognitiver Prozesse und 52% für das Gedächtnis (McClearn et al., 1997). Die Gruppe um Swan untersuchte die Erblichkeit der exekutiven Kontrolle und kam zu einem Wert von 34-68% (Swan & Carmelli, 2002). Eine weitere Studie untersuchte die Erblichkeit verschiedener Gedächtnisfunktionen und zeigte, dass das Arbeitsgedächtnis mit 49% die höchste Erblichkeit aufweist. Die Erblichkeit des Langzeitgedächtnisses scheint niedriger assoziiert zu sein, mit 47% für das visuelle und 28% für das verbale Langzeitgedächtnis (Johansson et al., 1999).

Die Erblichkeit des Arbeitsgedächtnisses wurde von Ando et al. untersucht. Es wurden einzelne Unterschiede der Speicher- und Exekutivfunktionen im Arbeitsgedächtnis sowohl für räumliche als auch für verbale Funktionen bei Zwillingspaaren untersucht. Das Arbeitsgedächtnis wurde getrennt für räumliche Speicherfunktionen, räumliche Exekutivfunktionen, verbale Speicherfunktionen und verbale Exekutivfunktionen getestet. Die Erblichkeit des Arbeitsgedächtnisses wird hierbei auf 43-49%, die für räumliche und verbale Kognition auf 65% geschätzt. Ando et al. folgern daraus, dass mehrere genetische Faktoren Einfluss auf die verbale und räumliche Kognition haben. Weiterhin schlagen sie vor, dass in den

verschiedenen Gehirnarealen die unterschiedlichen Gedächtnisprozesse durch getrennte genetische Einflüsse beeinflusst werden (Ando et al., 2001).

Diese Auswahl an Studien zeigt, dass der Faktor g, der allgemein die kognitiven Fähigkeiten beschreibt, höchstwahrscheinlich von verschiedenen genetischen Prozessen beeinflusst und kontrolliert wird.

1.2.1 Familien-, Adoptions- und Zwillingsstudien

Familienstudien setzen die genetische Ähnlichkeit zwischen Eltern und ihren Nachkommen sowie zwischen zusammenlebenden Geschwistern voraus. Dabei kann die Ähnlichkeit sowohl genetisch als auch umgebungsbedingt sein. Familienstudien stellen daher keine sichere Trennung von Genetik und Umweltfaktoren dar. Am deutlichsten wird die genetische Disposition beim Vergleich der Konkordanzdaten eineiiger Zwillinge, bei denen eine nahezu vollständige genetische Identität vorliegt, und zweieiiger Zwillinge, die nur etwa 50% ihrer Gene teilen. Adoptionsstudien stellen eine besondere Möglichkeit dar, um genetische und umweltbedingte Faktoren einer Familie zu trennen.

Es werden zwar Zwillingsstudien zur Kognition eingesetzt, diese können jedoch nicht die speziellen Gene, die dabei eine Rolle spielen, festlegen. Einen ergänzenden Forschungsansatz bietet die Molekulargenetik.

1.2.2 Molekulargenetik

Für das Auffinden bestimmter Gene, die das Gedächtnis beeinflussen, gibt es zwei mögliche Wege: Kopplungsstudien und Assoziationsstudien. Erstere beruhen nicht auf bestimmten biologischen Hypothesen und sind innerhalb von Familienstudien darauf angelegt, chromosomale Regionen zu identifizieren, die prädisponierende Genorte enthalten. Letztere waren ursprünglich auf die Auswahl von plausiblen Kandidatengenen angewiesen. Beide Methoden stellen prinzipiell komplementäre Ansätze zur Identifizierung von Suszeptibilitätsgenen für komplexe Erkrankungen dar. Seit der Entwicklung der Chip-Technologie, mit der bis zu 2 Millionen Variationen pro Proband in einem Ansatz untersucht werden können, sind hier

ebenfalls genomweite, hypothesenfreie Untersuchungen möglich (Ylstra et al., 2006; Beaudet & Belmont, 2008).

1.2.2.1 Kopplungsstudien

Mit Kopplungsstudien wird untersucht, ob ein Phänotyp und ein genetischer Marker überzufällig häufig in Familien zusammen vererbt werden. Die Idee dabei ist, dass eine dem Phänotyp zugrunde liegende DNA-Sequenz und ein Marker mit umso geringerer Wahrscheinlichkeit durch eine Rekombination voneinander getrennt werden, je näher sie auf einem Chromosom liegen (Boddeker & Ziegler, 2000). Aus einem Kopplungsbefund kann auf die chromosomale Lage eines potentiellen Gens, welches für eine Krankheit ursächlich ist, geschlossen werden. Es wird also die Vererbung von ausgewählten Markern bei Verwandten ersten Grades untersucht.

1.2.2.2 Assoziationsstudien

Eine Assoziation liegt dann vor, wenn der spezifische genetische Marker in der Population häufiger bei erkrankten als bei gesunden Personen vorkommt. In Assoziationsstudien wird demnach untersucht, ob ein spezifisches Allel oder ein spezifischer Genotyp überzufällig häufig in der Gruppe der Erkrankten im Vergleich zu der Gruppe der Gesunden auftritt (Boddeker & Ziegler, 2000). Meistens werden zwei Gruppen unterschiedlicher Ausprägung eines Markers untersucht, z.B. eine Gruppe von Patienten einer bestimmten Erkrankung und eine Gruppe gesunder Probanden. Wenn ein Marker eine ausgeprägt unterschiedliche Allelverteilung zwischen den beiden Studiengruppen aufweist, dann ist dies ein Hinweis auf eine Assoziation zum untersuchten Merkmal.

Eine Assoziation kann mehrere Gründe als Ursache haben:

1. Das untersuchte Allel hat einen direkten Einfluss auf die Entstehung der Erkrankung. Es kann z.B. die Genexpression oder die Aminosäuresequenz verändern.

1. Einleitung

2. Das untersuchte Allel liegt in enger Nachbarschaft zu einem krankheitsverursachenden Gen und befindet sich mit diesem im Kopplungsungleichgewicht. Dies bedeutet, dass sie abhängig voneinander auftreten können, wenn sich die betreffenden Gene in enger räumlicher Nähe auf dem Chromosom befinden. Dabei ist nur einer der beiden Polymorphismen von funktioneller Relevanz, der zweite ist nur zufällig an ihn gekoppelt und hat keinen Einfluss auf die Ausprägung des Phänotyps. Es kann auf das Vorliegen des zweiten Allels mit großer Wahrscheinlichkeit geschlossen werden, wenn von der Existenz des ersten Kenntnis besteht.
3. Als dritte Möglichkeit kommt die falsch-positive Assoziation in Frage. Dies bedeutet, dass Menschen mit einem bestimmten Phänotyp und Menschen ohne diesen möglicherweise aus genetisch unterschiedlichen Gruppen der Bevölkerung stammen.

Die Entschlüsselung des menschlichen Genoms hat dazu geführt, dass ein zunehmender Überblick über Genvarianten gewonnen wurde. Eine Form der Variation ist der Austausch einzelner Bausteine, wobei eine der Basen Thymin, Cytosin, Adenin, Guanin durch eine andere ersetzt wird. Dies wird als Einzelbasenpolymorphismus oder *single nucleotide polymorphism* (SNP) bezeichnet (Mossner et al., 2009). Seit mehreren Jahren ist es nun möglich, eine große Zahl dieser im menschlichen Genom vorkommenden Varianten gleichzeitig zu untersuchen, um neue Kandidatengene zu finden (Mossner et al., 2009).

1.3 Schizophrenie

1.3.1 Definition

Die Schizophrenie ist eine wichtige psychiatrische Erkrankung, die zur Hauptgruppe der Psychosen gerechnet wird. Charakteristische Symptome sind Wahn, Halluzinationen, formale Denkstörungen, Ich-Störungen, Affektstörungen und psychomotorische Störungen. Es wird eine multifaktorielle Entstehung der

1. Einleitung

Erkrankung angenommen, genetische Faktoren werden hierbei als wichtige Teilursache angesehen.

1.3.2 Symptomatik

Die Schizophrenie weist nach DSM-IV (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders) einige einvernehmlich anerkannte Hauptsymptome auf (DSM-IV, 1994). Dazu gehören:

1. Akustische Halluzinationen: Trugwahrnehmungen, häufig in Form von Geräuschen oder Stimmen. Die Stimmen sprechen miteinander über die Person oder kommentieren deren Handlungen oder Gedanken.
2. Kontrollwahn: das Gefühl, von einer äußeren Kraft oder Instanz kontrolliert zu werden. Manche Betroffene sind sogar davon überzeugt, dass diese Instanz in ihren Körper eingedrungen ist (z.B. in Form von Geistern, Strahlen oder implantierten Transmittern).
3. Wahnvorstellungen: fehlerhafte Urteile und Überzeugungen, z.B. Verfolgungswahn, Größenwahn, Beziehungswahn, usw.
4. Ich-Störungen: die Patienten fühlen, dass fremde Gedanken in ihre Gedankenwelt eindringen (Gedankeneingebung), dass ihnen ihre eigenen Gedanken durch eine äußere Macht entzogen wird (Gedankenentzug), oder sogar dass ihre Gedanken anderen unmittelbar mitgeteilt werden (Gedankenausbreitung).
5. Affektive Verflachung und Willensschwäche: die Emotionen der Patienten wirken auf andere abgestumpft und indifferent, werden als „flach“ beschrieben. Sie verlieren häufig an Eigeninitiative und Energie.

1.3.3 Klassifikation und diagnostische Merkmale der Schizophrenie

Die Erscheinungsbilder der Schizophrenie sind schon lange bekannt und wurden früher unter verschiedenen Namen beschrieben. Emil Kraepelin fasste 1898 dies unter dem Krankheitsbild der „*Dementia praecox*“ zusammen und verdeutlichte auf diese

Weise den ungünstigen Verlauf der Erkrankung im Sinne einer schweren Persönlichkeitsveränderung. Er nahm die Einteilung in folgende Subtypen in Abhängigkeit von der führenden Symptomatik und vom Verlauf vor: paranoid-halluzinatorisch, hebephren und kataton (Kraepelin, 1896).

Eugen Bleuler, der 1911 die Erkrankung als „Schizophrenie“ (Bewusstseinsspaltung: „*schizo-*“ „*σχίζο-*“ griech: gespalten, „*phren*“ „*φρην*“ griech: Geist) bezeichnete, hat sich mit diesem Begriff stärker auf das psychopathologische Querschnittsbild bezogen, das unter anderem durch eine Spaltung des persönlichen Erlebens gekennzeichnet ist. Er entwickelte eine Einteilung in Grundsymptome und vorübergehende (akzessorische) Symptome. Nach seiner Ansicht gehörten zu den Grundsymptomen Assoziations- und Affektstörungen, Autismus und Ambivalenz, zu den akzessorischen Störungen Halluzinationen, Wahn und Katatonie (Bleuler, 1911).

Später veröffentlichte 1939 Kurt Schneider eine Einteilung der Schizophrenie-Symptome in Symptome ersten und zweiten Ranges. Seine Einteilung orientierte sich an der unterschiedlichen diagnostischen Wertigkeit einzelner Symptome aus folgenden pathologischen Erlebniskategorien: Halluzinationen, schizophrene Ich-Störungen und Wahn. Bei den Symptomen ersten Ranges handelt es sich um solche, die sich eindeutig von den als normal betrachteten Verhaltensweisen unterscheiden. Andere schizophreniebedingte Auffälligkeiten sah er als Symptome zweiten Ranges an (Schneider, 1967).

Seit den 70er Jahren werden die Symptome der schizophrenen Psychosen auch in positive und negative Symptome differenziert. Nach der von Kay et al. 1987 entwickelten PANSS (Positiv- und Negativ-Syndrom Skala) ordnet man den positiven Symptomen folgendes zu: Wahn, Halluzinationen, Größen- und Verfolgungsideen, formale Denkstörungen sowie Erregung und Feindseligkeit. Demgegenüber enthalten die negativen Symptome: Affektverflachung, emotionalen Rückzug, soziale Passivität, Mangel an affektivem Erleben sowie an Spontaneität und Flüssigkeit der Sprache, Schwierigkeiten beim abstrakten Denken und stereotype Gedanken, (Kay et al., 1987). Nach Möller und Deister gelten als charakteristische Symptome Wahn, Halluzinationen, Störungen im formalen Denken und Affekt sowie Ich- und psychomotorische Störungen (Möller et al., 2001).

Aktuell gebräuchlich sind die Klassifikationssysteme ICD-10 (International Classification of Diseases, Tenth Edition) der Weltgesundheitsorganisation der Vereinten Nationen und DSM-IV (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fourth Edition) der American Psychiatric Association. Die Klassifikation nach der ICD-10 beinhaltet folgende klinische Syndrome: paranoide, hebephrene, katatone und undifferenzierte Schizophrenie, die postschizophrene Depression und die Schizophrenia simplex sowie das schizophrene Residuum. Sie zählt alle bei der Schizophrenie auftretenden Symptome auf und bietet eine Unterteilung in Subtypen je nach vorhandenen Symptomen bzw. Krankheitsverlauf (ICD-10, 1992). Das amerikanische Diagnosesystem DSM-IV unterscheidet fünf Haupttypen: paranoid, desorganisiert, kataton, undifferenziert und residual. Es ordnet das Auftreten von Symptomen in einen strengerem zeitlichen Rahmen ein und verlangt darüber hinaus das Vorliegen einer sozialen Beeinträchtigung des Patienten zur Diagnosestellung (DSM-IV, 1994).

1.3.4 Epidemiologie

Die jährliche Inzidenz der Schizophrenie ist 10.2-22 pro 100 000 Personen-Jahren, mit einer Lebenszeit-Prävalenz von etwa 0.30-0.66% (McGrath et al., 2008). Männer und Frauen erkranken gleich häufig, wobei der Erkrankungsbeginn bei Frauen später liegt (Mueser & McGurk, 2004).

1.3.5 Ätiologie

Als ein gesicherter Risikofaktor für die Schizophrenie gilt eine familiäre genetische Belastung (Gottesman et al., 1987; Cardno et al., 1999; Mueser & McGurk, 2004). Mehrere Familien-, Zwillings- und Adoptionsstudien konnten dies belegen (Kendler & Diehl, 1993; Portin & Alanen, 1997).

Darüberhinaus scheinen Umwelteinflüsse eine gewisse Rolle in der Genese zu spielen. Soziale und demographische Faktoren, wie ein niedriger sozioökonomischer Status (Brown, 2011), die Geburt und das Aufwachsen in einem städtischen Umfeld (Eaton et al., 2000; Riedel-Heller & Angermeyer, 2000; Pedersen & Mortensen, 2001;

March et al., 2008), stressbelastete Lebensereignisse und der Status von Migranten und Minderheiten (Harrison et al., 1997; Boydell et al., 2001; Cantor-Graae & Selten, 2005; Veling et al., 2008; Bourque et al., 2011) scheinen die Manifestation der Erkrankung zu begünstigen. Es findet sich eine Häufung an Schizophrenie-Erkrankungen in dem Bevölkerungsteil, der in den Wintermonaten geboren wurde (Hettema et al., 1996; Davies et al., 2003). Des Weiteren stellen Komplikationen im Schwangerschaftsverlauf und unter der Geburt sowie Störungen unter der Fetalentwicklung einen Risikofaktor dar (Hultman et al., 1997; Cannon et al., 2002; Cannon et al., 2003; Brown, 2011).

Heute wird zusammenfassend von einer multifaktoriellen Genese der Erkrankung ausgegangen, wobei eine genetisch bedingte Vulnerabilität im Zentrum steht. Aus genetischen Faktoren, die sich mit Umwelteinflüssen wechselseitig beeinflussen, können hirnstrukturelle, neurophysiologische bzw. biochemische Besonderheiten entstehen. Daraus resultiert eine erhöhte Vulnerabilität, also eine Prädisposition zur Manifestation der Krankheit. Zusätzlich können ungünstige psychosoziale Stressoren die Manifestation erleichtern. Hinzu kommen verlaufsbeeinflussende Faktoren, welche die Heilung, die Rezidivierung bzw. die Chronifizierung der Erkrankung beeinflussen können (s. Abb. 2, S. 15).

Mehrere Untersuchungen haben gezeigt, dass sich im Gehirn von Schizophreniepatienten strukturelle Veränderungen finden, die schon Jahre vor Beginn der Erkrankung nachweisbar sind. Es wird davon ausgegangen, dass eine frühe abnormale Gehirnentwicklung die Ursache dafür ist. Daher wird auch eine neuronale Entwicklungsstörung diskutiert (Mueser & McGurk, 2004; Powell, 2010).

Als pathophysiologische Grundlage werden Ungleichgewichte der Neurotransmittersysteme diskutiert. Die Dopaminhypothese besagt, dass prä- oder postsynaptische Regulationsstörungen des Dopaminstoffwechsels zu einer dopaminergen Überaktivität in limbischen Regionen und zu einer dopaminergen Unteraktivität im Frontalhirn führen (Carlsson, 1978). Für diese Hypothese spricht, dass wirksame Antipsychotika wie Haloperidol oder Flupentixol (die bei der Schizophrenie therapeutisch eingesetzt werden) Dopaminantagonisten an vorwiegend D₂-Rezeptoren sind. Ferner kann eine chronische und hoch dosierte Einnahme von Amphetamin, welches zur Dopaminausschüttung führt und dessen Inaktivierung

durch präsynaptische Wiederaufnahmehemmung hemmt, Psychosen mit schizophrenieähnlichen Symptomen induzieren, dies nennt man auch Amphetaminpsychose (Breier et al., 1997; Seeman et al., 2005; Lieb, 2008). Es konnte weiterhin in neuropathologischen Untersuchungen ein gesteigerter Dopamingehalt und eine erhöhte Dichte von D₂-Rezeptoren im limbischen System von Schizophreniepatienten nachgewiesen werden, wobei auch D₃- und D₄-Rezeptoren eine Rolle spielen können (Seeman et al., 1993; Bai et al., 2004; Seeman et al., 2006). Einige Befunde sprechen jedoch gegen eine „reine“ Dopaminhypothese. Die Dopamin-D₂-Rezeptor-Blockade setzt innerhalb von Minuten bis Stunden ein, während sich die antipsychotische Wirkung von Neuroleptika erst innerhalb von Tagen bis Wochen einstellt. Außerdem sprechen Negativsymptome der Schizophrenie weniger gut auf Neuroleptika an (Lieb, 2008).

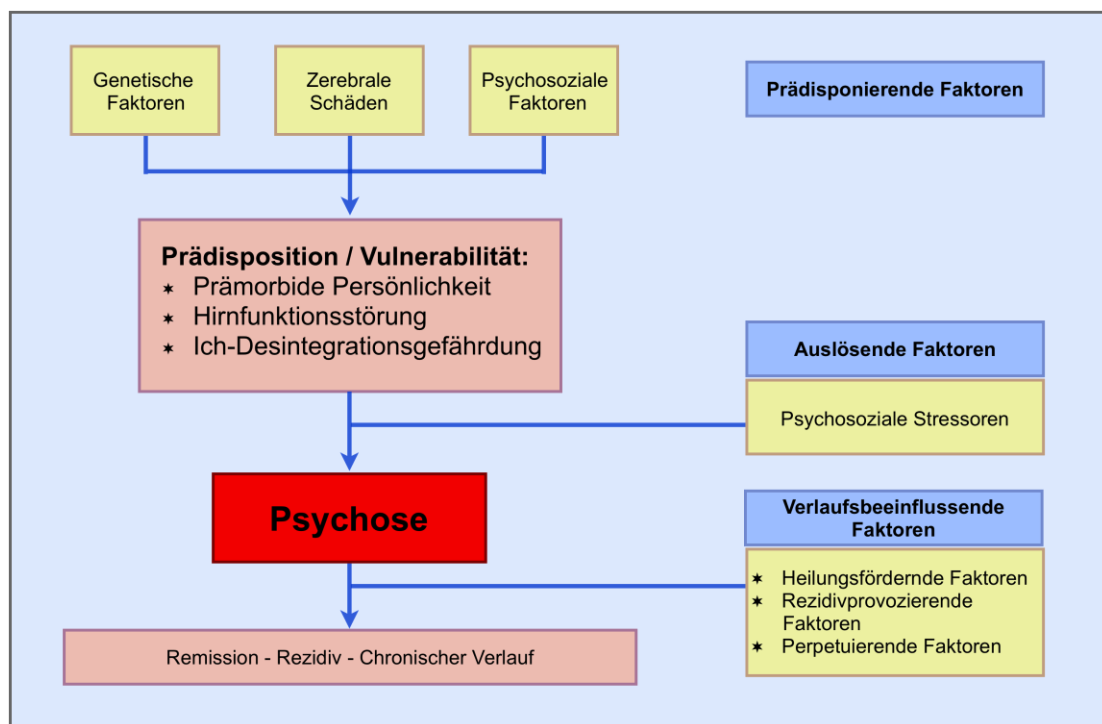


Abb. 2 Multifaktorielle Ätiopathogenese der Schizophrenie (Modifiziert nach Möller et al. 2001).

1.3.6 Genetik und Schizophrenie

Die Evidenz einer genetischen Grundlage der Erkrankung basiert auf Familien-, Zwillings- und Adoptionsstudien und ist relativ gut gesichert (Cardno et al., 1999; Tsuang et al., 2001; Cloninger, 2002; Sullivan et al., 2003). Die Krankheit zeigt ein

komplexes Vererbungsschema und eine niedrige Penetranz. Das Risiko für die Krankheitsentwicklung bei der Schizophrenie erhöht sich mit zunehmendem Grad genetischer Verwandtschaft (McGuffin et al., 1995). So liegt die Morbidität in den betroffenen Familien deutlich höher als in der Durchschnittsbevölkerung und nimmt mit steigendem Verwandtschaftsgrad zu einem Erkrankten zu (Kendler & Gardner, 1997). Im Vergleich zum Risiko der Normalbevölkerung von 1%, liegt bei Angehörigen ersten Grades das Risiko, ebenfalls an einer Schizophrenie zu erkranken, in einer Größenordnung von 9%, bei Angehörigen zweiten Grades bei etwa 6% (Tsuang et al., 2001). Bei Erkrankungen beider Elternteile steigt das Risiko für die Kinder auf 40% an (Kety, 1987; Tsuang et al., 1991; Tsuang et al., 2001). In verschiedenen Zwillingsstudien wurde wiederholt eine Konkordanz der eineiigen Zwillinge zwischen 40% und 60% festgestellt, bei zweieiigen Zwillingen beträgt sie zwischen 4% und 15% (Kringlen, 1976; Farmer et al., 1987; Onstad et al., 1991; Cannon et al., 1998; Sullivan et al., 2003). Dies ist ein weiteres Indiz für die Rolle der Genetik in der Entstehung der Schizophrenie. Andererseits wird dadurch auch ersichtlich, dass es weitere, nicht-genetische Einflüsse gibt. In Anbetracht der multifaktoriellen Ätiologie der Schizophrenie begünstigen Umweltfaktoren in Zusammenhang mit der genetischen Anlage die Wahrscheinlichkeit der Manifestation einer Erkrankung. Adoptionsstudien zeigen, dass das Erkrankungsrisiko für Adoptivkinder, die von schizophrenen Eltern stammen, größer ist als für Adoptivkinder ohne genetisches Risiko, die bei schizophrenen Adoptiveltern aufgewachsen sind (Kendler et al., 1994; Kety et al., 1994).

1.4 Kognitive Defizite bei der Schizophrenie

Während der letzten Jahrzehnte häuften sich die Hinweise, dass die Schizophrenie mit signifikanten kognitiven Einschränkungen assoziiert ist (Mueser & McGurk, 2004). Neurokognitive Defizite sind in vielen Teilbereichen der Informationsverarbeitung gezeigt worden (Braff et al., 1991) und es wird mittlerweile davon ausgegangen, dass sie wichtige pathologische und klinisch relevante Korrelate der Erkrankung darstellen (Bilder et al., 2000; Keefe & Fenton, 2007; Galletly, 2009).

Ungefähr 70% der Schizophreniepatienten zeigen kognitive Defizite (Palmer et al., 1997), welche teilweise schon bei Krankheitsbeginn diagnostizierbar sind (Saykin et

al., 1994; Lewis, 2004), mit messbaren Gehirndysfunktionen einhergehen (Gold, 2004) und sich auch nach jahrelanger Behandlung der Erkrankung und trotz der effektiven Reduktion positiver Symptome durch Medikation wiederfinden (Heinrichs & Zakzanis, 1998; Harvey et al., 1999; Harvey & Keefe, 2001; Mishara & Goldberg, 2004; Mueser & McGurk, 2004). Außerdem lassen sich kognitive Einschränkungen teilweise auch bei einigen gesunden Verwandten von Schizophreniepatienten wiederfinden (Toulopoulou et al., 2003; Toulopoulou et al., 2006; Gur et al., 2007).

Kognitive Defizite können sich als Unfähigkeit des Patienten, Gesten oder Gefühle ihrer Mitmenschen zu erkennen oder angemessene Antworten auf Situationen abzurufen, manifestieren. Patienten haben unter anderem deshalb häufig Schwierigkeiten, soziale und interpersonelle Fähigkeiten zu entwickeln.

In neuropsychologischen Testverfahren wurden bei Schizophreniepatienten Defizite im Gesamt-IQ, dem Lernen und Gedächtnis (Calev et al., 1983; Saykin et al., 1991; Goldberg et al., 1993a), dem Lösen von Problemen, der sozialen Kognition und den Exekutiv- und Aufmerksamkeitsfunktionen beschrieben (Censits et al., 1997; Aleman et al., 1999; Bilder et al., 2000; Mueser & McGurk, 2004; Nuechterlein et al., 2004). Am ausgeprägtesten sind hierbei die Gedächtnisfunktionen eingeschränkt (Cirillo & Seidman, 2003), gefolgt von exekutiven und motorischen Funktionen. In Longitudinalstudien gibt es teilweise widersprüchliche Daten über den Verlauf der Defizite. Einerseits zeigte sich in einigen Arbeiten, dass es in vielen Fällen zu keiner Verschlechterung der kognitiven Fähigkeiten kam (Censits et al., 1997; Moritz et al., 2002; Hill et al., 2004), andererseits wird jedoch auch über deren Zunahme bis hin zur Erscheinung von progressiver Demenz berichtet (Meltzer et al., 1996). Die Gruppe um Saykin verglich Patienten mit Erstmanifestation mit Patienten, die schon früher behandelt wurden. Beide Gruppen wiesen eine generalisierte kognitive Einschränkung auf, die besonders im verbalen Gedächtnis und Lernen hoch war (Saykin et al., 1994). Zahlreiche Studien konnten zeigen, dass Schizophreniepatienten in einer großen Auswahl an Gedächtnisfunktionen schlechter abschneiden (Landro, 1994; Stip, 1996; Riley et al., 2000; Townsend et al., 2001; Schuepbach et al., 2002; Ranganath et al., 2008). Es wird davon ausgegangen, dass ein Defizit in neurokognitiven Funktionen, speziell in den Termini Aufmerksamkeit, Arbeitsgedächtnis, Begriffsbildung, abstraktes Denken, verbal-linguistische Fähigkeiten, allgemeine Intelligenz und

deklaratives, speziell verbales Gedächtnis mit einem genetischen Risiko für Schizophrenie einhergehen (Seidman et al., 2006).

Die beschriebenen Phänomene sind möglicherweise mit dem jeweiligen Subtyp der Schizophrenie und vom Krankheitsverlauf abhängig.

1.4.1 Gedächtnisdefizite bei der Schizophrenie

Schizophreniepatienten erzielen schlechtere Leistungen in vielen Gedächtnisfunktionen, im Vergleich zu gesunden Personen (Gold et al., 1992) und es wird hypothetisiert, dass die Gedächtnisdefizite ein primäres Krankheitssymptom darstellen (Stip, 1996). Eine Studie von Mohamed et al. untersuchte die Gedächtnisleistungen von 94 Patienten, die sich in der ersten akuten Erkrankungsperiode befanden. 73 dieser Patienten waren zum Zeitpunkt der Untersuchungen noch nicht medikamentös behandelt worden. Die Patienten wurden mehreren Gedächtnistests unterzogen, u.a. auch den Tests Logisches Gedächtnis I und II aus der WMS-R. Die Patienten zeigten im Vergleich zu gesunden Kontrollen erhebliche Defizite in den meisten Gedächtnisleistungen. Dies weist darauf hin, dass die Defizite primär zum pathologischen Bild der Schizophrenieerkrankung gehören, da Variablen wie Medikation, Krankheit oder Hospitalisierung fehlten (Mohamed et al., 1999).

Die Gruppe um Bilder untersuchte Schizophreniepatienten (n=94), die die erste Erkrankungsperiode bereits überstanden hatten und sich nach einer medikamentösen Behandlung in einer stabilen Erkrankungsphase befanden. Sie wollten das Ausmaß und das Bild des neuropsychologischen Defizits der Patienten untersuchen. Auch in dieser Studie kamen u.a. einige Untertests der WMS-R zum Einsatz. Die Patienten hatten in allen kognitiven Aspekten, v.a. aber in den Gedächtnisleistungen Defizite (Bilder et al., 2000). Patienten, die sich in der Remissionsphase ihrer Erkrankung befanden, zeigten keine Verbesserung ihrer kognitiven Defizite (Hoff et al., 1992). Schizophreniepatienten (N=32) in der ersten akuten Erkrankungsperiode, unter stabiler medikamentöser Behandlung, und Patienten, die an chronischer Schizophrenie litten (N=26), hatten im Vergleich zu gesunden Kontrollen ähnliche kognitive Defizite (Hoff et al., 1992). Chan et al. kamen zu einem ähnlichen Ergebnis,

als sie akute und chronische Schizophreniepatienten mit Kontrollprobanden verglichen. Patienten zeigten ein ähnliches Defizit verglichen mit Gesunden (Chan et al., 2000). Schuepbach et al. untersuchten Patienten vor und nach einer medikamentösen Behandlung und fanden keine Besserung der Gedächtnisleistungen, auch nicht, nachdem sich andere Erkrankungssymptome der Schizophrenie besserten (Schuepbach et al., 2002). Dies lässt vermuten, dass der Fortschritt der Erkrankung keinen weiteren Einfluss auf die Gedächtnisleistung hat.

Es gibt widersprüchliche Daten darüber, welche Gedächtnisfunktionen beeinträchtigt sind. Während sich bei einigen Studien Defizite sowohl in deklarativen als auch in non-deklarativen Gedächtnisfunktionen fanden, schließen andere darauf, dass es keine Einschränkung des non-deklarativen Gedächtnisses, jedoch eine schwache Beeinträchtigung des deklarativen Gedächtnisses bei Schizophrenen gibt (Saykin et al., 1991; Goldberg et al., 1993b; Randolph et al., 1993; Perry et al., 2000).

Die am stärksten betroffene Gedächtnisleistung scheint bei Schizophrenen das verbale Gedächtnis zu sein (Heinrichs & Zakzanis, 1998; Aleman et al., 1999). Dies äußert sich in einer Beeinträchtigung schon zu Beginn der Erkrankung (Bilder et al., 2000), die sich im weiteren Krankheitsverlauf jedoch kaum verschlechtert (Heaton et al., 2001).

Bei Schizophreniepatienten sind sowohl das Kurz- als auch das Langzeitgedächtnis betroffen (Aleman et al., 1999). Die Gruppe um Aleman hat in einer Meta-Analyse 70 Studien, in denen Kurz- und Langzeitgedächtnis bei Schizophreniepatienten untersucht wurden, miteinander verglichen. Ziel dieser Analyse war es, das Ausmaß, den Umfang und die Art der Gedächtnisdefizite bei Schizophreniepatienten zu bestimmen. Zusätzlich sollte der Einfluss von möglichen Variablen, wie z.B. klinische Variablen oder Studiencharakteristika auf die Assoziation zwischen Schizophrenie und Gedächtnisdefiziten untersucht werden. Es hat sich eine signifikante und stabile Assoziation zwischen Gedächtnisverschlechterung und Schizophrenie herauskristallisiert. Die Defizite ließen sich in sämtlichen Gedächtnisleistungen nachweisen. Das Ausmaß des Defizits war unbeeinflusst von den Variablen Alter, Medikation, Dauer und Schweregrad der Erkrankung oder positiven Symptomen. Lediglich Patienten mit negativen Symptomen zeigten ein größeres Gedächtnisdefizit.

Weitere Gruppen untersuchten das Ausmaß der Heritabilität von Gedächtnisdefiziten bei Schizophrenie. In einer umfangreichen Arbeit wurden 267 gesunde und an Schizophrenie erkrankte mono- und dizygotische Zwillingspaare untersucht. Unter anderem wurden Unterschiede im Arbeitsgedächtnis betrachtet und mit der genetischen Konkordanz verglichen. Patienten mit Schizophrenie und einige ihrer gesunden Zwillingsgeschwister hatten hierbei schlechtere Ergebnisse als gesunde Probanden. Gesunde monozygotische Zwillingsgeschwister von Patienten mit Schizophrenie hatten, verglichen mit der Kontrollgruppe, schlechtere Ergebnisse als gesunde dizygotische Geschwister. Dies weist darauf hin, dass die für die Erkrankung ursächlichen Gene auch mit einem Gedächtnisdefizit assoziiert sind und nicht die Erkrankung an sich (Toulopoulou et al., 2007). In weiteren Untersuchungen wurde das verbale Gedächtnis mittels der Untertests Logisches Gedächtnis und Verbale Paarererkennung der WMS-R sowie das visuelle Gedächtnis mittels des Untertests Visuelle Wiedergabe untersucht. Die Probanden waren Familien und Zwillingspaare von Schizophreniepatienten und Kontrollen. Die Patientengruppe und ihre gesunden Familienmitglieder hatten schlechtere Ergebnisse als die der gesunden Probanden mit ihren Familienmitgliedern. Weiterhin wurde der Grad der Heritabilität untersucht und es konnte gezeigt werden, dass ein erheblicher Anteil der kognitiven Unterschiede auf einige genetische Merkmale der Schizophrenie zurückzuführen sind (Toulopoulou et al., 2010).

In den folgenden Kapiteln soll das Neuropeptid Y beschrieben werden, ein Neurotransmitter, der im Zusammenhang sowohl mit Gedächtnisleistungen als auch mit der Schizophrenie diskutiert wird.

1.5 Das Neuropeptid Y (NPY)

Das Neuropeptid Y (NPY) wurde 1982 von Tatemoto entdeckt. Die Sequenzierung dieses Peptids zeigte die Anwesenheit einer Tyrosin-Aminosäure an beiden N- und C-Enden. Das Y in der Benennung NPY steht für das Ein-Buchstaben-Symbol von Tyrosin (Tatemoto, 1982). Es gehört zur Familie der pankreatischen Polypeptide (PP-Familie) (Tatemoto et al., 1982; Redrobe et al., 1999), zu der auch das Pankreatische

1. Einleitung

Polypeptid (PP), das Peptid YY (PYY) und das nicht in Säugetieren vorkommende Pankreatische Peptid (PPY) gehören (Andrews et al., 1985; Wahlestedt & Reis, 1993).

Das Neuropeptid Y ist wohl der meist vorhandene und am weitesten verbreitete Neurotransmitter im Gehirn (Wahlestedt & Reis, 1993; Kask et al., 2002) sowie in noradrenergen Neuronen des peripheren autonomen Nervensystems. Es erfüllt alle Kriterien eines Neurotransmitters, da es in synaptischen Granulae gespeichert ist (Fried et al., 1985), durch elektrische Nerv-Stimulation freigesetzt wird (Lundberg et al., 1989) und auf spezifische Rezeptoren wirkt (Wahlestedt et al., 1990; Wahlestedt & Reis, 1993).

1.5.1 Das Neuropeptid Y-Gen

Das NPY-Gen ist auf dem menschlichen Chromosom 7, auf dem Locus 7p15.1 lokalisiert (s. Abb. 3).

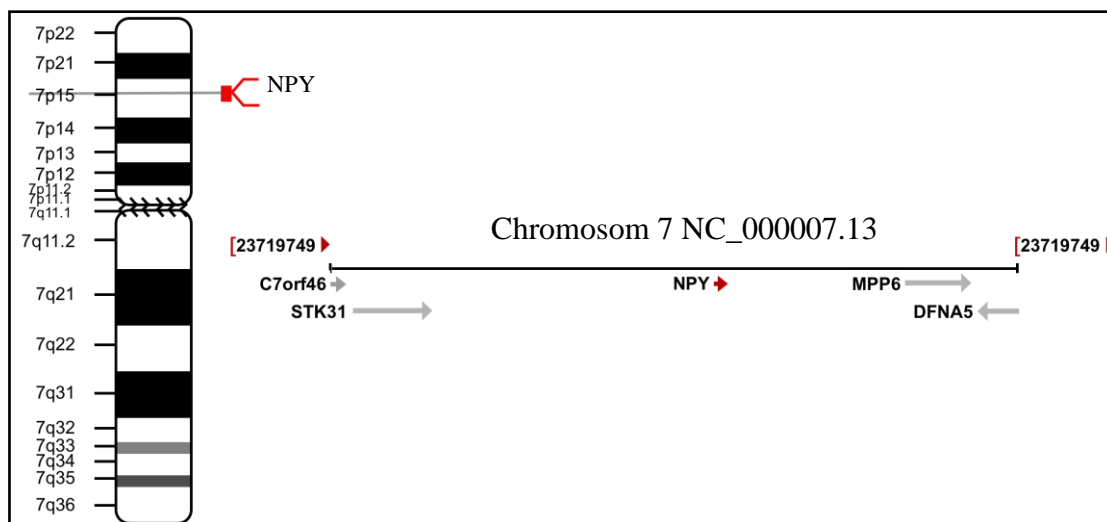


Abb. 3 Lage des NPY-Gens auf dem Locus 7p15.1 auf Chromosom 7 (NCBI, 2011a)

Es besteht aus vier Exons. Das erste enthält die 5'-untranslatierte Region (5'-UTR). Das zweite Exon codiert das Signalpeptid und den Hauptpart der vollentwickelten NPY-Sequenz. Das dritte Exon beinhaltet die Sequenzen, welche die Aminosäure Tyrosin³⁶ des NPY, die Glyzin³⁷-Donor-Stelle, die zweibasische K³⁸-R³⁹ Stelle für die Spaltung durch die Prohormon-Konvertase (PC) und den Großteil des C-terminalen

1. Einleitung

Peptids des NPY (CPON) kodieren. Letztlich kodiert das vierte Exon das Ende des CPON und die Region 3'-UTR (Silva et al., 2002) (s. Abb. 4).

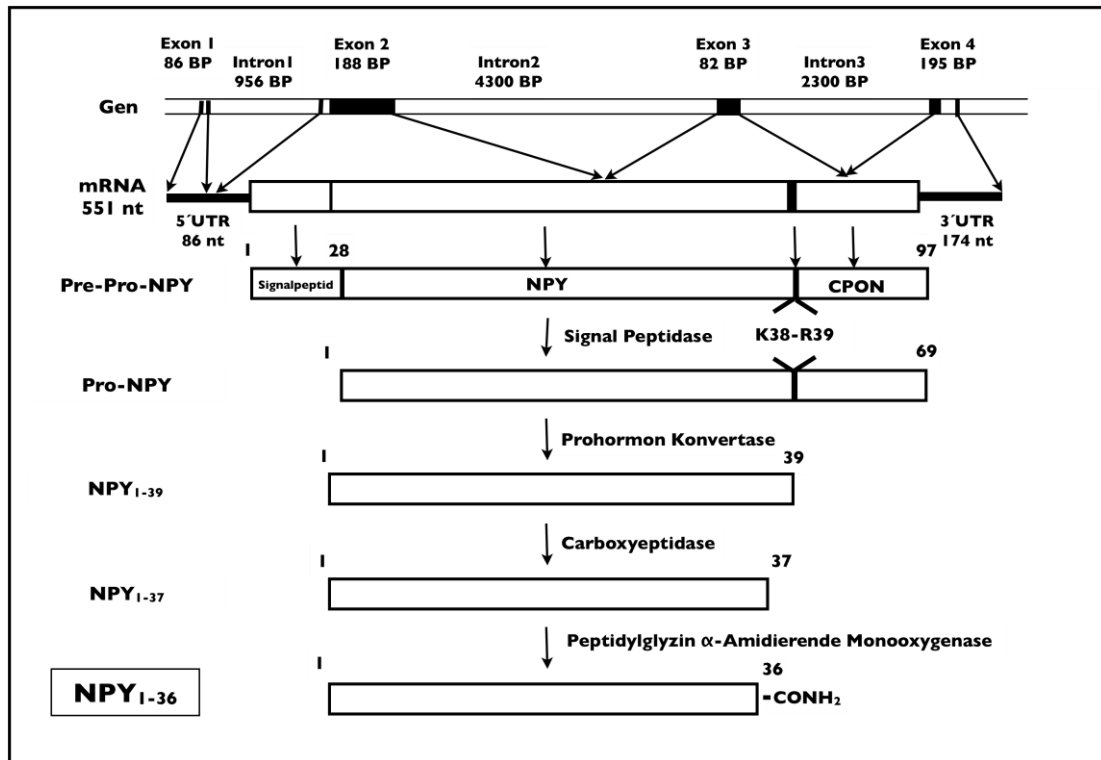


Abb. 4 Biosynthese des Neuropeptids Y (NPY) (Modifiziert nach Silva et al., 2002). (BP: Basenpaare; mRNA: messenger Ribonukleinsäure; nt: Nukleotide; UTR: Untranslatierte Region; CPON: C-flankierendes Peptid des NPY).

Aus der Translation wird das pre-pro-NPY gebildet, ein Vorläufer für NPY, bestehend aus 97 Aminosäuren. Es besitzt ein hydrophobes Signalpeptid aus 28 Aminosäuren, welches wichtig für die Einschleusung in das endoplasmatische Retikulum ist, und demnach für die Aufnahme in den sekretorischen Teil der Zelle. Danach wird das Signalpeptid entfernt und es bleibt ein Prohormon aus 69 Aminosäuren. Der anschließende Bearbeitungsschritt besteht aus der Spaltung des Prekursor-pro-NPY an einer Zweibasens-Stelle durch die Prohormon-Konvertase. Dadurch entstehen das NPY₁₋₃₉ und das CPON, ein weiteres Peptid, dem jedoch noch keine bestimmte Wirkung zugewiesen wurde (Wahlestedt & Reis, 1993).

Zwei weitere sequenzielle Transaktionen am C-Terminus, durch eine Carboxypeptidase und die Peptidylglyzin α-amidierende Monooxygenase, führen zum biologisch aktiven amidierten NPY. Der Amid-Rest ist für die Aktivität des NPY essentiell und verhindert einen Abbau durch Carboxypeptidasen. Das reife NPY kann

weiterhin durch zwei Enzyme, die Dipeptidyl-Peptidase IV und die Aminopeptidase P, zu NPY₃₋₃₆ und NPY₂₋₃₆ entsprechend verarbeitet werden (Silva et al., 2002) (s. Abb. 4, S. 22).

1.5.2 Struktur des NPY

Computer-Modellierungs-Studien zufolge besitzen das NPY und seine chemischen Verwandten PYY und PP eine tertiäre dreidimensionale Struktur, die aus einer N-terminalen Polyprolin-Typ-II-Helix (Reste 1-9) und einer amphiphilen α -Helix (Reste 14-30) besteht, welche durch eine Typ-II- β -Drehung verbunden werden. Dadurch entsteht eine enge Nachbarschaft der N- und C-Enden des Peptids (Dumont et al., 1992; Silva et al., 2002). Es entsteht ein Haarnadel-ähnlicher Henkel, der als *PP-fold* bezeichnet wird (Fuhlendorff et al., 1990; Schwartz et al., 1990). Diese Struktur wurde durch kristallographische Verfahren aufgeklärt (Fuhlendorff et al., 1990; Larhammar, 1996; Michel et al., 1998) (s. Abb. 5).

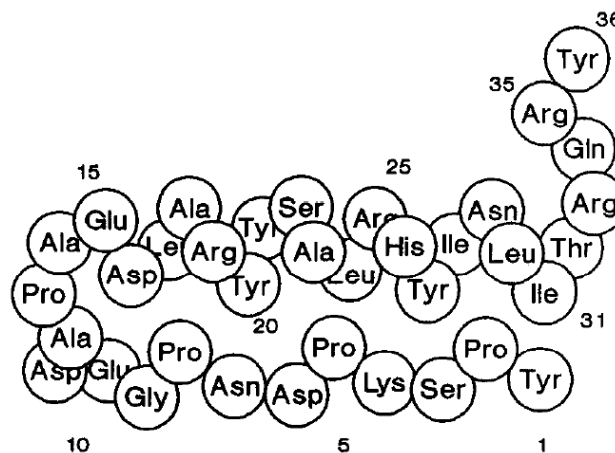


Abb. 5 Schematische Darstellung der dreidimensionalen NPY-Struktur (*PP-Fold*) (Aus Fuhlendorff et al., 1990).

Alle Mitglieder der PP-Familie bestehen aus 36 Aminosäuren und haben ein Carboxy-terminales Amid (Thorsell & Heilig, 2002). Die Aminosäuresequenz des humanen NPY ist: YPSKPDNPGEDAPAEDMARYYSALRHYINLITRQRY-Amid (Wahlestedt & Reis, 1993; Michel et al., 1998).

1.5.3 Vorkommen des NPY im Organismus

Die Peptide NPY, PYY und PP kommen an verschiedenen Stellen im Organismus vor. Demnach wird das NPY primär von Neuronen im peripheren (vorwiegend sympathischen) Nervensystem synthetisiert und freigesetzt. Es ist im zentralen und peripheren Nervensystem weit verbreitet und wird gemeinsam mit Noradrenalin gespeichert und freigesetzt (Silva et al., 2002). Das PYY dagegen wird von intestinalen endokrinen Zellen, das PP vorwiegend von Pankreas-Zellen synthetisiert und freigesetzt. Während das NPY Neurotransmitter-Funktionen im zentralen und peripheren Nervensystem aufweist, haben PYY und PP hauptsächlich Hormoncharakter (Michel et al., 1998).

In Tierexperimenten wurde die Verteilung des NPY im Gehirn untersucht. Es ist in großen Mengen im Hypothalamus, im Nucleus accumbens und dem Septum vorhanden. Der Hippocampus, die Amygdala, der Thalamus und die basalen Ganglien beinhalten moderate NPY-Mengen, während es in Pons und Cerebellum fast keine NPY-Expression gibt (Chronwall et al., 1985; Kask et al., 2002; Thorsell & Heilig, 2002).

1.5.4 Signalübertragung des NPY

Die verschiedenen biologischen Effekte von NPY und seinen Homologen werden durch die Aktivierung von mindestens fünf verschiedenen G-Protein-gekoppelten heptahelikalen Rezeptoren vermittelt, die zusammen als die Y-Rezeptor-Familie bekannt sind und ein Multirezeptor/Multiligand-System bilden (Lindner et al., 2008). Dieses System besteht beim Menschen aus 4 verschiedenen Rezeptor-Subtypen und den 3 Liganden der NPY-Hormon-Familie NPY, PYY und PP (Lindner et al., 2008). Mindestens fünf Y-Rezeptoren von Säugetieren wurden kloniert, die als Y₁ (zunächst als postsynaptischer Rezeptor charakterisiert), Y₂ (ein präsynaptischer Rezeptor), Y₄ (zunächst als PP-Rezeptor charakterisiert), Y₅ (in der Ernährung involviert) und y₆ bekannt sind (Michel et al., 1998; Silva et al., 2002). Diese Rezeptorsubtypen wurden, mit Ausnahme des Y₃-Rezeptors, erfolgreich kloniert und sind in verschiedenen Spezies vorhanden. Lediglich der Rezeptorsubtyp y₆ ist nur bei Mäusen und Kaninchen, jedoch nicht bei Ratten und Primaten entdeckt worden. Die Existenz eines

Y₃-Rezeptor-Subtyps (ein NPY-bevorzugender Rezeptor) wird kontrovers diskutiert und wurde noch nicht bewiesen (Redrobe et al., 1999). Die Rezeptoren sind in verschiedenen Geweben lokalisiert, besonders hohe Expressionsdichten sind in Blutgefäßen, Nieren, Pankreas, Darm und Gehirn charakteristisch (Ingenhoven & Beck-Sickinger, 1999). Sie unterscheiden sich jedoch nicht nur in ihrer Liganden-Affinität, sondern auch in ihrer Verteilung im ZNS und der Peripherie sowie in ihrer Verteilung in verschiedenen Spezies (Thorsell & Heilig, 2002).

Alle bekannten NPY-Rezeptoren gehören zu der großen Super-Familie der G-Protein-gekoppelten, heptahelikalen Rezeptoren. Sie scheinen ähnliche Transduktionsbahnen zu benutzen. In fast allen untersuchten Zelltypen agieren die NPY-Rezeptoren via Pertussis-Toxin-sensitiven G-Proteinen, das heißt Mitgliedern der G_i- und G_o-Familie. Die Aktivierung der Rezeptoren führt zu einer Inhibition der Adenylatzyklase (Gerald et al., 1996; Weinberg et al., 1996; Michel et al., 1998). Allerdings kann dies wahrscheinlich viele der funktionalen Reaktionen nach Stimulation der Y-Rezeptoren nicht erklären (Michel et al., 1998). Zusätzliche Signal-Antworten, die auf bestimmte Zelltypen begrenzt sind, wären z.B. eine Aktivierung oder Blockierung von Ca²⁺-Kanälen in der Plasmamembran. Durch die Mobilisierung intrazellulärer Ca²⁺-Vorräte durch Inositolphosphat-abhängige und -unabhängige Wege wird die intrazelluläre Ca²⁺-Konzentration verändert (Silva et al., 2002). Außerdem bewirken sie eine Aktivierung und Inhibition von K⁺-Kanälen, z.B. in Kardiomyozyten (Millar et al., 1991) und vaskulären glatten Muskelzellen (Xiong & Cheung, 1995; Michel et al., 1998).

1.5.4.1 Dopamin und Neuropeptid Y

Es ist untersucht worden, inwiefern es komplexe funktionelle Interaktionen zwischen Dopamin und NPY-haltigen Neuronen gibt. Wahrscheinlich werden einige der Wirkungen des NPY durch die Aktivierung von Dopaminrezeptoren vermittelt, da sie den von d-Amphetamin hervorgerufenen Effekten ähneln (Obuchowicz et al., 2004). Die Ergebnisse immunhistochemischer, biochemischer Studien sowie Verhaltensstudien haben gezeigt, dass eine reziproke Interaktion zwischen dem NPY-System und Dopamin existiert (Heilig, 1993; Obuchowicz et al., 2004). Im Tierversuch führte eine verringerte Dopaminkonzentrationen im Gehirn von Ratten zu

einer verringerten Dichte an NPY-positiven Neuronen (Salin et al., 1990). Die NPY-positiven Neurone scheinen unter dem Einfluss von Dopaminafferenzen zu stehen (Kerkerian et al., 1986). Die selektive Läsion der Dopaminbahnen von Ratten hat zu dem Ergebnis geführt, dass die Anzahl an Neuronen mit Neuropeptid Y-ähnlicher Immunreaktivität erhöht wird. Dieser Effekt war nach Injektion des Dopamin-Agonisten Apomorphin (welches auch in der Parkinsonbehandlung eingesetzt wird) komplett zurückgesetzt. Die Behandlung mit dem Dopamin-Antagonisten Haloperidol führte ebenfalls zu einer Verminderung der Anzahl an NPY-positiven Zellen, genauso wie die Behandlung mit dem Dopamin-Syntheseinhibitor α -Methylparatyrosin (Kerkerian et al., 1988).

Unter Berücksichtigung der Indizien für den Einfluss des Dopamin-Systems auf das NPY suggerieren Obuchowicz et. al, dass das NPY eine zentrale Rolle in den Effekten von Antipsychotika spielt (Heilig, 1993; Obuchowicz et al., 2004).

1.5.5 Wirkungen des NPY

1.5.5.1 Zentralnervöse Wirkungen

Immunhistochemische und radioimmunologische Analysen fanden hohe Level an NPY-Immunreaktivität im Säugetiergehirn. Tatsächlich ist das NPY eines der meist vorhandenen Peptide im ZNS und ein evolutionär hoch konserviertes Peptid (Larhammar, 1996), was auf eine wichtige Rolle in der Regulation fundamentaler physiologischer neuronaler Grundfunktionen hinweist. Übereinstimmend hiermit zeigten intrazerebroventrikuläre Injektionen von NPY-Fragmenten in Tierexperimenten eine Induktion verschiedener biologischer Reaktionen (Redrobe et al., 1999). Unter anderem bewirkt das NPY eine Anregung der Nahrungsaufnahme (Stanley & Leibowitz, 1984; Dumont et al., 1992). Viele Studien weisen auf eine wichtige Rolle des NPY in der neuronalen Regulation der Nahrungsaufnahme (Clark et al., 1984), seine Wirkung als natürlich vorkommender Appetitgeber (Kalra et al., 1999) und eine Schlüsselrolle bei der Appetitkontrolle, der Körpergewichtszunahme und der Adipositas hin (Silva et al., 2002).

Das NPY scheint des Weiteren zirkadiane Rhythmen zu beeinflussen (Yannielli & Harrington, 2001). Verschiedene Studien weisen auch auf eine wichtige Funktion des NPY als Vermittler von Analgesie und Hyperalgesie durch unterschiedliche zentrale und periphere Mechanismen hin (Munglani et al., 1996; Silva et al., 2002).

Eine NPY-ähnliche Immunreaktivität wurde durchgehend im gesamten Gehirn festgestellt, ist aber zum größten Teil im Hypothalamus und zum Teil im Hippocampus konzentriert (Dumont et al., 1992). Die Hippocampus-Region wurde mehrmals sowohl mit der Regulierung der Kognition als auch mit der Pathogenese von Anfallsleiden in Verbindung gebracht (Redrobe et al., 1999).

Die Rolle des NPY in der Genese von Anfallsleiden und seine mögliche Beteiligung in der Epilepsie ist in den letzten zehn Jahren untersucht worden (Silva et al., 2002). Das NPY reguliert wahrscheinlich die neuronale Erregbarkeit (Colmers & Bleakman, 1994; Redrobe et al., 2004) und hat eine krampflösende (antikonvulsive) Wirkung (Vezzani et al., 1999).

Das NPY wird auch in Zusammenhang mit anderen psychiatrischen Erkrankungen diskutiert, unter anderem Depression (Stogner & Holmes, 2000; Redrobe et al., 2002) und Angststörung (Heilig et al., 1992; Kask et al., 2002). Verschiedene tierexperimentelle Studien zeigten, dass niedrige NPY-Dosen einen anxiolytischen Effekt hervorrufen, während höhere Dosen sedierend wirken (Heilig et al., 1993; Heilig & Thorsell, 2002; Silva et al., 2002). Thorsell et al. fanden heraus, dass seine Freisetzung durch Stress induziert wird (Thorsell et al., 1999).

Weiterhin wird seit einigen Jahren der regulierende Einfluss des NPY auf das Lernen und das Gedächtnis diskutiert (Flood et al., 1987; Flood & Morley, 1989; Redrobe et al., 1999; Redrobe et al., 2003).

1.5.5.2 Periphere Wirkungen

Zu den peripheren Effekten des NPY gehört unter anderem das kardiovaskuläre System, wo es eine lang andauernde Vasokonstriktion bewirkt und den Blutdruck erhöht, indem es unter anderem die Freisetzung von Neurotransmittern reguliert (Dumont et al., 1992). Am Herzen zeigten einige Studien, dass das NPY eine

koronare Vasokonstriktion bewirkt und einen negativ inotropen Effekt hat (Allen et al., 1983; Dumont et al., 1992). Weiterhin zeigte sich, dass das NPY Auswirkungen in der Niere, dem Urogenitaltrakt und den Gastrointestinaltrakt hat (Dumont et al., 1992). Hansel et al. zeigten, dass das NPY eine Rolle in der Förderung der Proliferation postnataler neuronaler Vorläuferzellen hat und deuten an, dass es die Proliferation neuronaler Vorläuferzellen von erwachsenen Säugetieren regulieren könnte (Hansel et al., 2001).

1.6 NPY und Gedächtnis

Die Rolle des NPY in Gedächtnisfunktionen wurde bisher nicht in gleichem Maße untersucht wie andere seiner ZNS-Funktionen. Die beschriebenen Effekte scheinen vielfältig zu sein (Thorsell & Heilig, 2002). Das heutige Fachwissen über den Einfluss erhöhter NPY-Level auf das Gedächtnis ist noch limitiert (Sorensen et al., 2008). Im Allgemeinen scheint das NPY die Gedächtniserhaltung und -abrufung zu verbessern (Wettstein et al., 1995).

Die Verteilung des NPY im ZNS spricht für eine wichtige Funktion bei der Modulation kognitiver Prozesse, da die höchsten Konzentrationen des NPY in Hippocampus und Amygdala bestehen und der NPY-Bindungsstellen-Anteil im Hippocampus am größten ist (Chang et al., 1985; Gray & Morley, 1986). Lokalisierte Medikamenten-Applikation, Autoradiographie und Läsions-Studien weisen auf den Einfluss des Hippocampus und der Amygdala auf das Gedächtnis und das Lernen hin (Flood et al., 1987; Flood et al., 1989; Nakajima et al., 1994).

Die ersten Verhaltensstudien auf diesem Gebiet wurden 1987 veröffentlicht. Die Gruppe um Flood untersuchte die Auswirkung des NPY auf das Lernen und die Gedächtnisverarbeitung und -abrufung. Sie beschreiben die Gedächtniserhaltung bei Mäusen und zusätzlich den anti-amnestischen Effekt des NPY auf Mäuse, bei denen eine Amnesie pharmakologisch durch Scopolamin und Anisomycin hervorgerufen wurde. Das NPY verbesserte die Gedächtniserhaltung und -abrufung, jedoch nicht den Gedächtniserwerb, wenn es Mäusen vor oder nach den Experimenten injiziert wurde. Die durch Scopolamin und Anisomycin hervorgerufene Amnesie war nach

NPY-Injektion aufgehoben (Flood et al., 1987). Zu ähnlichen Ergebnissen kam auch eine andere Arbeitsgruppe um Nakajima (Nakajima et al., 1994).

In weiteren tierexperimentellen Studien mit Mäusen zeigte sich, dass das NPY die Gedächtnisverarbeitung verbessern konnte, wenn es in das Septum und den rostralen Bereich des Hippocampus appliziert wurde, jedoch eine Amnesie erzeugte, wenn es in die Amygdala oder den kaudalen Hippocampus injiziert wurde. Es konnte jedoch kein Effekt beobachtet werden, wenn das NPY in den Thalamus injiziert wurde. Diese Beobachtungen waren allesamt zeitabhängig (Flood et al., 1989). Interessant erscheint darüberhinaus, dass eine passive Immunisierung mit NPY-Antikörpern die Gedächtnisleistung verbesserte, wenn sie in die Amygdala oder den kaudalen Hippocampus injiziert wurden. Die Gruppe um Flood et al. schloss deswegen darauf, dass das NPY eher auf verschiedene physiologische Substrate einwirkt, welche mit der Gedächtnisfunktion in Zusammenhang stehen, statt durch nicht spezifische Effekte wie z.B. Erregung zu wirken (Flood et al., 1989). Zusätzlich scheinen die Effekte des NPY auf das Gedächtnis von der anatomischen Lokalisation seiner Freisetzung abhängig zu sein. Die Gedächtnisverbesserung scheint im Hippocampus durch den präsynaptischen Y_2 -Rezeptor moduliert zu werden (Morley & Flood, 1990). Interessanterweise kam eine andere Gruppe zu dem Ergebnis, dass geringe NPY-Dosen zur Gedächtnisverbesserung, während hohe NPY-Dosen zu einer -verschlechterung führen (Thomas & Ahlers, 1991). Dies weist auf eine physiologische Rolle des NPY in Lern- und Gedächtnisfunktionen hin (Silva et al., 2002).

Die Entwicklung einer NPY-transgenen Ratte bot die Möglichkeit, die Effekte des Peptids auf die Lern- und Gedächtnisverarbeitung zu untersuchen. Die transgenen Ratten weisen eine Überexpression des NPY im Hippocampus auf. Die Tiere boten auf Verhaltensebene eine Schwächung der räumlichen Gedächtniserwerbung und -erhaltung (Thorsell et al., 2000). Eine weitere Arbeit demonstrierte, dass dieser Effekt komplett zurückgesetzt wurde, wenn die Tiere älter wurden. Ein Jahr alte transgene Ratten boten keinen Unterschied ihrer Gedächtnisleistung, verglichen mit gleichaltrigen Kontrollratten (Carvajal et al., 2004). 2008 fand die Gruppe um Sorensen, dass die transgenen Ratten ein vorübergehendes Lerndefizit hatten, verglichen mit Kontrolltieren. Das Defizit war am 3. und 4. Tag der Untersuchungen

am größten, in den darauffolgenden Tagen erzielten sie aber ähnliche Leistungen wie die Kontrolltiere. Dies deutet darauf hin, dass die Tiere mit NPY-Überexpression einen verlangsamten Lernprozess hatten, aber trotzdem Gedächtnis erwerben konnten (Sorensen et al., 2008). Der Grund für die Diskrepanz zwischen den einzelnen Studien ist unklar, aber Sorensen et al. schlagen vor, dass der Zeitpunkt der NPY-Bioverfügbarkeit während eines Lernprozesses eine wichtige Rolle für die Verarbeitung der Gedächtnisprozesse durch das NPY spielt. Der Effekt des NPY auf das Gedächtnis scheint in der Anfangsphase eines Lernprozesses ausgeprägter zu sein (Sorensen et al., 2008).

Eine weitere Studie untersuchte unter anderem die Gedächtnisleistung von NPY-*Knock-Out*-Mäusen. Das Fehlen des NPY bei diesen Mäusen hat interessanterweise zu keinem Lern- oder Gedächtnisdefizit geführt (Karl et al., 2008).

Die Identität eines oder mehrerer spezifischer Rezeptor-Subtypen, die in NPY-induzierten Effekten auf Lern- und Gedächtnisleistung involviert sind, bleiben bisher unklar, obwohl einige Anhaltspunkte für eine Aktivierung des Y₂-Rezeptors sprechen (Morley & Flood, 1990; Nakajima et al., 1994). Die konkrete Rolle des NPY (und insbesondere die Rolle des Y₂-Rezeptor-Subtyps) in den Lern- und Gedächtnisfunktionen blieb ebenso lange weitgehend unklar (Redrobe et al., 2003). Eine erste Darstellung der möglichen Mitwirkung des Y₂-Rezeptors in diesen Funktionen gelang mit transgenen Mäusen, die einen Mangel an Y₂-Rezeptoren hatten. Sie wiesen Lern- und Gedächtnisdefizite auf. Dies deutet auf den Einfluss des Y₂-Rezeptors auf die Gedächtnisverarbeitung hin (Redrobe et al., 2003). Ein Jahr später fand die gleiche Gruppe um Redrobe, dass Mäuse, denen der Y₂-Rezeptor fehlte, leichte Gedächtniseinschränkungen hatten, verglichen mit gesunden Mäusen. Der Unterschied war erst nach einer zeitlichen Verzögerung von 6 Stunden zu sehen (Redrobe et al., 2004). Die Gruppe um Karl konnte demgegenüber keine signifikanten Unterschiede im Gedächtnis von gesunden Mäusen und solchen, denen der Y₂-Rezeptor fehlt, nachweisen (Karl et al., 2009).

Die Gruppe um Sorensen konnte zeigen, dass der NPY-Gentransfer in den Hippocampus von Ratten die aktivitätsabhängige synaptische Transmission und Plastizität von rezipitatorischen Synapsen herabsetzt. Diese Veränderungen der synaptischen Plastizität waren mit einem verlangsamten Gedächtniserwerb assoziiert

(Sorensen et al., 2008). Eine weitere tierexperimentelle Studie untersuchte, ob und wie das NPY exzitatorische bzw. inhibitorische synaptische Afferenzen beeinflusst. Sie konnten aufzeigen, dass das NPY die Frequenz von Aktionspotential-abhängigen rezeptorischen und inhibitorischen Inputs auf Interneurone –die sog. Colecystokin (CCK)-Korbzellen, im Hippocampus durch die Aktivierung von Neuropeptid Y₂-Rezeptoren beeinflusst. Die Frequenz von Aktionspotential-abhängigen und -unabhängigen rezeptorischen postsynaptischen Strömen auf CCK-Korbzellen wird wahrscheinlich durch eine Inhibition der präsynaptischen Glutamatfreisetzung erzielt. Das NPY führt hierbei zu einer verminderten exzitatorischen Transmission auf die CCK-Korbzellen (Ledri et al., 2011). CCK-Korbzellen wurden mit der Gedächtniskonsolidierung in Zusammenhang gebracht (Freund, 2003; Ledri et al. 2011).

Diese genannten Studien demonstrieren, dass das NPY eine wichtige Rolle während der Gedächtnisverarbeitung hat, es bedarf aber noch weiterer Studien, um die genauen Effekte und Zeitpunkte genau zu definieren.

1.7 NPY und Schizophrenie

Neuere Verhaltensstudien haben gezeigt, dass das NPY wichtige Funktionen in verschiedenartigen Domänen, wie motorische Aktivität, Angst, Lernen und Gedächtnis, Aggression, Anfallsleiden, Alkoholanfälligkeit, zirkadiane Rhythmen und Nozizeption hat. Verhaltensweisen, die mit neuropsychiatrischen Erkrankungen einhergehen, wie z.B. Depression oder Schizophrenie, scheinen durch NPY modifiziert zu werden (Karl & Herzog, 2007).

Eine pathophysiologische Rolle des NPY in der Schizophrenie wird seit ca. 2 Jahrzehnten diskutiert. Es wurden nur wenige klinische Studien über die mögliche Rolle des NPY in der Schizophrenie publiziert und ihre Ergebnisse sind unterschiedlich (Obuchowicz et al., 2004). Mehrere biochemische Analysen haben auf einen Einfluss des NPY im Krankheitsbild der Schizophrenie gedeutet. Beispielsweise wurde in postmortalen Untersuchungen von Gehirnen Neuroleptika-behandelter, im Vergleich zu unbehandelten schizophrenen Patienten, eine verringerte

NPY-Konzentration im temporalen Kortex gefunden. Keine Unterschiede zeigten sich jedoch in den Neuropeptid-Konzentrationen im Hypothalamus von schizophrenen Patienten und gesunden Kontrollen (Frederiksen et al., 1991).

Eine mögliche NPY-assoziierte Dysfunktion der neuronalen Entwicklung wird durch Ergebnisse neuropathologischer Studien untermauert, worin sich die proportionale Verteilung NPY-positiver Neurone und Fasern im präfrontalen Kortex zwischen Schizophreniepatienten und gesunden Probanden unterschieden. Die Gruppe um Ikeda untersuchte postmortal die Unterschiede in der Verteilung NPY-haltiger Neurone im Frontallobus von Schizophreniepatienten und gesunden Kontrollen. Sie konnten demonstrieren, dass NPY-haltige Neurone bei Schizophreniepatienten in tiefen Lagen der weißen Substanz reichlich verteilt sind, während die Verteilung in den oberen Kortikalschichten spärlicher ist, verglichen mit dem Gehirn gesunder Probanden. Sie stellten im Folgenden die Hypothese auf, dass eine Dysfunktion der Interneurone im Gehirn schizophrener Patienten vorliegt und unterstützen dadurch die Annahme einer Entwicklungsanomalität des ZNS in der Schizophrenie (Ikeda et al., 2004). Einige Jahre zuvor wurde bereits gezeigt, dass postmortem NPY-positive Fasern im Hippocampus von schizophrenen Patienten morphologisch verändert waren, was auf eine Dysfunktion der Interneurone hinweist. Da keine Hinweise auf neurodegenerative Prozesse zu finden waren, schließen die Autoren auf einen veränderten Neuroentwicklungsprozess. Diese morphologischen Veränderungen sind eine mögliche Erklärung für die verschiedenen Symptome der Schizophrenie, wie Gedächtnis- bzw. Lerndefizite (Iritani et al., 2000).

Andere Studien beobachteten eine Abnahme der NPY-Genexpression von Schizophreniepatienten im frontalen Kortex, jedoch nicht im temporalen Kortex. Es wurde keine signifikante Korrelation zwischen den NPY-mRNA-Level im frontalen Kortex und dem Alter, Geschlecht oder Dauer der Krankheit nachgewiesen. Die Veränderung der NPY-Genexpression im Gehirn der Schizophreniepatienten macht deutlich, dass die NPY-mRNA-Level im frontalen Kortex, jedoch nicht im temporalen Kortex reduziert sind (Kuromitsu et al., 2001).

Eine weitere Studie untersuchte eine Assoziation des -485T>C Polymorphismus (rs16147) in der Promotorregion des NPY-Gens und der Schizophrenie. Das T-Allel war in der Gruppe japanischer Schizophreniepatienten überexprimiert, verglichen mit

gesunden Probanden. Sie schlagen daher vor, dass das NPY im Kortex von Schizophrenen reduziert ist, was daraufhin deutet, dass das -485T-Allel die Erkrankung beeinflusst, indem es die NPY-Expression im Gehirn herabsetzt (Itokawa et al., 2003). Diese Hypothese konnte durch weitere Arbeiten bereits bestätigt werden (Buckland et al., 2004). Dementgegen zeigten andere neuere Studien keine Assoziation des -485T>C Polymorphismus und der Schizophrenie (Duan et al., 2005; Wang et al., 2005; Lindberg et al., 2006; Inoue et al., 2009). Es wird daher noch diskutiert, ob sich dieser Polymorphismus mit einem anderen Polymorphismus, der einen kausalen Effekt auf die NPY-Genexpression hat, in einem Kopplungsungleichgewicht befindet und daher die unterschiedlichen Ergebnisse erklärbar sind (Inoue et al., 2009).

Das NPY hat zusätzlich möglicherweise einen Einfluss auf die Therapie der Schizophrenie. Einige psychopharmakologische Substanzen beeinflussen das NPY-System durch Änderung der endogenen NPY-Konzentration. Beispielsweise wurde beobachtet, dass eine Behandlung mit dem Neuroleptikum Haloperidol die Konzentration des NPY bei Schizophreniepatienten (Peters et al., 1990) und aber auch im Tierexperiment (Sakai et al., 1995) erhöht. Außerdem wird diskutiert, inwiefern Änderungen des NPY-Systems Einfluss auf die therapeutische Wirkung und die zugehörigen Nebenwirkungen solcher Psychopharmaka haben könnten (Obuchowicz et al., 2004). Die Elektrokrampftherapie soll die NPY-Konzentration im Liquor von Schizophreniepatienten erhöhen. Math et al. untersuchten dazu die NPY-Immunreaktivität im Liquor von Schizophreniepatienten vor und nach einer Elektrokrampftherapie und zeigten, dass sich diese nach einer Reihe von Behandlungen erhöht hatte (Mathe, 1999).

Peters et al. untersuchten ebenfalls die NPY-ähnliche Immunreaktionsfähigkeit im Liquor von medikamentenfreien chronischen Schizophreniepatienten. Sie wiesen im Vergleich zu gesunden Probanden eine höhere NPY-Immunreaktion im Liquor auf, die mit dem Alter und dem Krankheitsverlauf abnahm. Es konnte zusätzlich gezeigt werden, dass Messungen von strukturellen Gehirn-Abnormalitäten in CT-Untersuchungen mit niedriger NPY-Immunreaktion im Liquor korrelieren. Eine Hypothese folgte daraus, dass erhöhte NPY-Immunreaktivitätslevel auf eine Vulnerabilität für Schizophrenie hinweisen. Es wurde weiter eine Korrelation

zwischen NPY-Immunreaktivität und positiven Symptomen bei stabilen Patienten, sowie negativen Symptomen bei Patienten mit Rezidiv nach Absetzen von Haloperidol gezeigt (Peters et al., 1990). Im Gegensatz zu dieser Studie konnten in einer anderen Untersuchung keine signifikanten Veränderungen der NPY-Immunreaktivität im Liquor cerebrospinalis von nichtmedikamentös behandelten und mit Neuroleptika behandelten Patienten nachgewiesen werden (Berrettini et al., 1987; Widerlov et al., 1988).

Zusammenfassend ist zu sagen, dass es Evidenz auf mehreren Ebenen gibt, dass das NPY eine bedeutende Rolle in der Ätiologie und Pathophysiologie und für den Krankheitsverlauf der Schizophrenie spielen könnte. Die verschiedenen Ergebnisse liefern Hinweise darauf, dass das NPY-Gen ein wichtiges Kandidatengen für die Suszeptibilität für Schizophrenie ist (Itokawa et al., 2003). Es ist möglich, dass die Erkrankung mit geänderten Konzentrationen bzw. mit einer Umverteilung des NPY im ZNS einhergeht (Karl & Herzog, 2007). Weiterhin erscheint die Rolle des NPY in der Schizophrenie komplex und weitere Untersuchungen sind demnach sinnvoll (Karl et al., 2009).

1.8 Fragestellung

In mehreren Studien konnte gezeigt werden, dass die Leistungsfähigkeit des Gedächtnisses eine erhebliche hereditäre Komponente besitzt (Plomin et al., 2001; Swan & Carmelli, 2002). Darüberhinaus ist in zahlreichen Studien nachgewiesen worden, dass die Schizophrenie mit relevanten Gedächtnisdefiziten einhergeht (Gold, 2004; Touloupoulou et al., 2006; Gur et al., 2007). Einige Arbeiten weisen auf einen neurobiologischen Zusammenhang zwischen dem Neuropeptid Y und der Schizophrenie hin (Ikeda et al., 2004; Karl & Herzog, 2007). Eine Hypothese hierbei besteht darin, dass das NPY einen direkten Einfluss auf die Gedächtnisfunktionen hat (Redrobe et al., 2003; , 2004); ein möglicher Zusammenhang des NPY-Gens mit Gedächtnisstörungen wurde beschrieben (Thorsell et al., 2000; Carvajal et al., 2004; Sorensen et al., 2008).

In dieser Arbeit soll die Assoziation zwischen einem Polymorphismus des NPY-Gens (rs16118) und Gedächtnisleistungsdefiziten bzw. Schizophrenie untersucht werden. Dazu sollen Gedächtnisleistungen einer Gruppe aus 108 schizophrenen Patienten sowie 222 gesunden Kontrollprobanden auf verschiedenen Ebenen mittels der WMS-R untersucht werden und die jeweiligen Ergebnisse zu der Genotyp- und Allelverteilung in Beziehung gesetzt werden.

2. Material und Methoden

2.1 Studiendesign

2.1.1 Vorbedingungen der Studiendurchführung

Die Untersuchung wurde in der Klinik und Poliklinik für Psychiatrie und Psychotherapie der Ludwig-Maximilians-Universität München durchgeführt und ist Teil einer großen Schizophrenie-Studie. Alle Probanden wurden über die Zielsetzung der Studie sowie die anonymisierte Verwendung der erhobenen Daten und gewonnenen Blutproben aufgeklärt. Die Studienteilnahme erfolgte auf freiwilliger Basis nach Einholen einer schriftlichen Einverständniserklärung vor der Studiendurchführung. Die Studie wurde durch die Ethikkommission der LMU München genehmigt.

2.1.2 Studienteilnehmer

Als Kontrollkollektiv wurde eine Gruppe von 222 nicht verwandten, gesunden, per Zufallsauswahl aus dem Verzeichnis des Einwohnermeldeamtes Münchens ausgesuchten Freiwilligen deutscher Herkunft (beide Eltern und alle 4 Großeltern mussten aus Deutschland stammen) untersucht. Ihr Alter lag durchschnittlich bei 48 Jahren (s. Tab. 1, S. 37).

Nach dem Erhalt einer positiven Rückantwort auf ein Einladungsschreiben erfolgte in einem standardisierten Telefonscreening die Befragung nach psychiatrischen und hirnorganischen Erkrankungen in der Kontrollgruppe und ihren Verwandten ersten Grades. Es wurde nach Medikamenteneinnahme, Medikamentenabusus, Alkohol- und Drogenkonsum bzw. -abhängigkeit gefragt. Zusätzlich wurde die Anamnese bezüglich depressiver und manischer Phasen, Angststörungen, Essproblemen und Suizidversuchen erhoben. Schließlich wurde nach psychiatrischen Konsultationen, neurologischen Behandlungen und psychiatrischen Aufenthalten gefragt.

Falls keine relevanten Befunde vorhanden waren, erfolgte die Übersendung einer ausführlichen schriftlichen somatischen und psychiatrischen Anamnese des Probanden und dessen Verwandten ersten Grades. Die Probanden wurden darin systematisch zu psychiatrischen und neurologischen Erkrankungen, Arztbesuchen bzw. Krankenhausaufenthalten und psychotherapeutischen Behandlungen befragt. Es wurde vor allem auf studienrelevante Erkrankungen wie Gemütererkrankungen, Abhängigkeiten und psychische Probleme eingegangen. Zusätzlich wurde auch auf psychiatrische Erkrankungen von Familienangehörigen eingegangen. Falls sich weder bei den Probanden noch bei ihren Verwandten Hinweise auf neurologische bzw. psychiatrische Erkrankungen ergaben, wurden sie zur Durchführung weiterer Untersuchungen eingeladen.

Schließlich wurden sie zu einem umfassendem klinischen Interview in die Klinik eingeladen. Bei Probanden, die älter als 60 Jahre waren, wurde ein Mini-Mental-Status-Test (MMST) benutzt, um relevante kognitive Einschränkungen auszuschließen. Mit dem Strukturierten Klinischen Interview (SKID I & II) wurden Achse I und II -Erkrankungen ausgeschlossen. Mit dem Family History Assessment Module (FHAM) wurden psychiatrische Erkrankungen der Verwandten der Probanden ausgeschlossen.

Waren nach Rücksprache mit psychologisch und psychiatrisch tätigen Kollegen die Studienkriterien erfüllt, wurden die Personen in die Studie einbezogen.

Tabelle 1 Die Studienteilnehmer

Gruppe	Alter Mittelwert (SD)	Geschlecht n (%)		Gesamt n
		Männlich n (%)	Weiblich n (%)	
Kontrollen	47,64 (15,31)	102 (45,9)	120 (54,1)	222
Patienten	39,12 (10,37)	66 (61,1)	42 (38,9)	108
Gesamt n (%)	44,85 (14,44)	168 (50,9)	162 (49,1)	330

Als Patientengruppe wurden 108 Patienten mit Schizophrenie unterschiedlicher Typen, gemäß den DSM-IV-Kriterien, untersucht. Sie waren deutscher Herkunft und ihr Alter lag bei durchschnittlich 39 Jahren (s. Tab. 1, S. 37).

Die Patienten wurden in der Psychiatrischen Klinik der Ludwig-Maximilians-Universität sowie in Kooperationskliniken aus einem ambulanten Sektor rekrutiert und zur Studiendurchführung in die Klinik eingeladen. Es wurde zunächst eine einführende Anamnese erhoben, um einen Überblick über die Krankengeschichte zu bekommen. Danach wurden ausgewählte psychische Störungen durch das SKID-I untersucht und dadurch die Diagnose Schizophrenie abgeklärt. Durch ein formalisiertes klinisches Interview mittels der Positive and Negative Symptom Scale (PANSS) wurden die Symptome erfasst und bewertet. Schließlich wurde das FHAM verwendet, um psychiatrische Vorgeschichten in der Familie zu eruieren und dadurch die Familienanamnese zu vervollständigen.

2.1.3 Klinisches Interview der Kontrollprobanden

2.1.3.1 Die körperliche Untersuchung

Es erfolgte eine standardisierte körperliche Untersuchung, um studienrelevante Vorerkrankungen klinisch auszuschließen. Zunächst erfolgte eine neurologische Anamnese und es wurde gezielt nach charakteristischen Beschwerden wie Bewegungs- und Empfindungsbeschwerden, Seh- und Hörschäden, Krampfanfällen, Kopfschmerzen, Schwindel und Miktionsbeschwerden gefragt. Schließlich wurde eine neurologische Untersuchung durchgeführt. Darin wurde der Reflexstatus erhoben, die Funktion der Hirnnerven getestet und die sensorischen, motorischen und koordinativen Fähigkeiten untersucht.

2.1.3.2 Der Mini-Mental-State-Test (MMST)

Der MMST (Folstein et al., 1990) wurde bei Personen über 60 Jahren durchgeführt, um kognitive Defizite festzustellen. Er wird zur Abklärung von Demenz, Veränderungen im Laufe der Krankheit oder zum Nachweis der Wirkung von

Medikamenten eingesetzt. Der Test besteht aus Aufgaben in den Bereichen Orientierung, Merkfähigkeit, Aufmerksamkeit, Rechenfähigkeit, Erinnerungsfähigkeit, Sprache, Lesen und Schreiben. Aus 30 Aufgaben können maximal 30 Punkte erreicht werden. Probanden, die weniger als 27 Punkte erreichten, wurden aus der Studie ausgeschlossen.

2.1.3.3 Das Strukturierte Klinische Interview für DSM-IV (SKID I & II)

Es wurde die deutsche Version des SKID (Wittchen et al., 1997) zur Exploration gemäß der Klassifikation der DSM-IV benutzt. Das SKID I ist ein strukturiertes klinisches Interview zur Diagnosestellung von Störungen auf Achse I (Psychopathologie). Darin werden affektive und psychotische Syndrome und Störungen, Missbrauch sowie Abhängigkeit von Drogen bzw. psychotropen Substanzen, Angststörungen, Essstörungen und somatoforme Störungen diagnostiziert. Das SKID II dient der Erhebung von Persönlichkeitsstörungen auf der Achse II. Es werden folgende Persönlichkeitsstörungen differenziert: zwanghaft, dependent, selbstunsicher, negativistisch, paranoid, schizotypisch, schizoid, depressiv, narzisstisch, histrionisch, Borderline und antisozial. Zusätzlich wird nach psychosozialen Beeinträchtigungen (DSM-IV Achse IV) gefragt und es wird die globale Leistungsfähigkeit (DSM-IV Achse V) beurteilt. Probanden mit somatischen Erkrankungen oder Störungen der Achsen I und II wurden aus der Studie ausgeschlossen.

2.1.3.4 Das Family History Assessment Module (FHAM)

Mittels des FHAM (Rice et al., 1995) wurden psychiatrische Vorgeschichten der Verwandten ersten Grades beurteilt. Es wurden Alkoholprobleme, Drogen- und Medikamentenabusus, Depression, Manie, Schizophrenie, antisoziale Tendenzen, neurotische Störung, das Aufsuchen psychiatrischer Hilfe und psychiatrisch stationäre Aufenthalte erhoben. Bei positiver psychiatrischer Anamnese wurden die Probanden aus der Studie ausgeschlossen.

2.1.4 Auswahlverfahren der schizophrenen Patienten

2.1.4.1 Standardisierte Anamneseerhebung

Die Anamneseerhebung erfolgte, um einen ersten Überblick über die Krankengeschichte und eventuelle Hinweise auf mögliche Suchterkrankungen des Patienten zu liefern. Es wurden die eigene Lebensgeschichte seit der Kindheit, Erkrankungen, Medikamenteneinnahmen, Alkohol- und Drogenkonsum, Rauchverhalten, ambulante und stationäre psychologische bzw. psychiatrische Therapien, Suizidalität, schulischer und beruflicher Werdegang und die familiäre und finanzielle Situation des Patienten erfasst. Schizophrene Patienten, bei denen die Ursache ihrer Erkrankung ein Suchtverhalten war, wurden aus der Studie ausgeschlossen.

2.1.4.2 Das strukturierte Klinische Interview für DSM – IV (SKID I)

Das SKID I (s. Kap. 2.1.3.3, S. 39) erfolgte zur Abklärung der Diagnose Schizophrenie. Es erfolgte die Einteilung in paranoide, katatone, desorganisierte, undifferenzierte und residuale Schizophrenie und der Schweregrad der Schizophrenie wurde beurteilt. Zusätzlich wurden Komorbiditäten für Drogen- und Alkohol-Abusus, posttraumatische Belastungsstörungen, somatoforme Störungen, Panik-, Zwangs-, Angst-, Ess- und Anpassungsstörungen abgefragt.

2.1.4.3 Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM–IV)

Mittels des DSM-IV (DSM-IV, 1994) wurde die Diagnose Schizophrenie verifiziert. Die folgenden charakteristischen Symptome sind dafür vorgesehen: Wahn, Halluzinationen, desorganisierte Sprechweise, desorganisiertes oder katatones Verhalten und negative Symptome sowie weitere Anzeichen der Störung (z.B. Willensschwäche, Alogie, Anhedonie, usw.) und flacher Affekt für mindestens 6 Monate. Es müssen mindestens 2 der 5 charakteristischen Symptome während eines Monats bestehen. Wenn Wahnsymptome bizarr sind oder Stimmen einbeziehen, reicht ein Symptom aus. Zudem müssen schizoaffektive und affektive Störungen

ausgeschlossen werden. Weiterhin darf die Erkrankung nicht auf direkte körperliche Wirkung einer Substanz oder auf eine körperliche Erkrankung zurückzuführen sein. Patienten, die die Kriterien des DSM-IV nicht erfüllten, wurden nicht in die Studie einbezogen.

2.1.4.4 Positive and Negative Syndrome Scale (PANSS)

Die PANSS (Kay et al., 1987) ist ein psychiatrisches Interview, in dem Symptome mittels einer siebenstufigen Skala bewertet werden. Die Symptome werden in die 3 Skalen Positivskala, Negativskala und psychopathologische Globalskala differenziert. Zu ersteren gehören Wahnvorstellung, formale Denkstörung, Halluzination, Erregung, Größenwahn, Feindseligkeit, Misstrauen und Verfolgungswahn. Zur Negativskala werden die Symptome Affektverarmung, emotionale Isolation, mangelnde Beziehungsfähigkeit, passiv-apathisch soziale Isolation, erschwertes abstraktes Denkvermögen, mangelnde Spontaneität und Gesprächsfähigkeit und stereotypes Denken gezählt. Die Symptome Angst, Schuldgefühle, Manirieren und Posieren, Depression, verlangsamte Motorik, Unkooperativität, ungewöhnliche Denkinhalte, Desorientiertheit, Aufmerksamkeitsschwäche, mangelnde Urteils- und Einsichtsfähigkeit, Störung der Willensbildung, mangelnde Impulskontrolle, Selbstbezogenheit, aktive soziale Meidung und leibliche Befindlichkeitsstörung werden in die psychopathologische Globalskala einbezogen. Bei der Beurteilung wurden die Beobachtungen der affektiven, kognitiven und psychomotorischen Funktionen und auch der Aufnahme- und Interaktionsfähigkeit berücksichtigt.

2.1.4.5 Das Family History Assessment Module (FHAM)

Das FHAM (s. Kap. 2.1.3.4. S. 39) wurde auch bei den schizophrenen Patienten durchgeführt und somit die Familienanamnese vervollständigt. Es hatte jedoch keinen Einfluss auf den Einschluss in die Studie.

2.2 Die Wechsler Memory Scale Revised (WMS-R)

Mit der WMS-R wurden die kognitiven Fähigkeiten, speziell die Gedächtnisleistung bei den Probanden getestet. Die vorliegende Arbeit verwendete die deutsche Adaptation der revidierten Fassung der *Wechsler Memory Scale* (Härting et al., 2000). Der Test untersucht sowohl das Kurzzeit- als auch das Langzeitgedächtnis sowie Aufmerksamkeitsfunktionen. Er dauert ca. 45-60 Minuten und wird in einer Sitzung durchgeführt. Die WMS-R besteht aus 13 Untertests, die bei der Auswertung unterschiedlich gewichtet sind und somit die 5 Gesamt-Indizes (Leistungsaspekte) ergeben: das Verbale Gedächtnis und das Visuelle Gedächtnis, die gemeinsam das Allgemeine Gedächtnis bilden, die Aufmerksamkeit/Konzentration und die Verzögerte Wiedergabe (s. Tab. 2, S. 43).

2.2.1 Die Untertests der WMS-R

Die Reihenfolge, in der die Untertests durchgeführt werden, entspricht der nachfolgenden Reihenfolge:

2.2.1.1 Information und Orientierung

Der Test beinhaltet 14 Fragen zur persönlichen, zeitlichen und örtlichen Orientierung sowie zum Allgemeinwissen, die zur Einschätzung der Durchführbarkeit des Tests dienen. Es sind maximal 14 Punkte zu erreichen. Die Antworten gehen nicht in die Beurteilung der Gedächtnisleistungen ein. Frage 4 lautet z.B. „*Wo sind Sie geboren?*“, Frage 12: „*In welcher Stadt sind wir?*“. In diesem Subtest muss der Proband die volle Punktzahl erreichen, ansonsten muss der Testdurchlauf abgebrochen und der Proband von der Studie ausgeschlossen werden. Zuletzt wird noch nachgefragt, ob der Proband Schwierigkeiten beim Hören oder Sehen hat, bzw. ob er farbenblind ist, um sicher zu gehen, dass der Proband im Hinblick auf die folgenden Aufgaben nicht eingeschränkt ist.

2.2.1.2 Mentale Kontrolle

Der Test Mentale Kontrolle besteht aus 3 Aufgaben. Der Proband soll dabei erlernte Reihen von Zahlen bzw. Buchstaben innerhalb eines bestimmten Zeitlimits aufsagen. Diese sind: Rückwärtszählen, Aufsagen des Alphabets und Zählen in Schritten. Pro Aufgabe werden jeweils 2 Punkte gegeben, wenn innerhalb des Zeitlimits keine Fehler auftreten. Gibt es einen Fehler innerhalb der Zeitgrenze, wird 1 Punkt gegeben, ansonsten wird kein Punkt vergeben. Es werden maximal 6 Punkte erreicht.

Tabelle 2 Untertests der WMS-R

Untertest (Gewicht bei der Auswertung)	Leistungsaspekt	
Information und Orientierung		
Logisches Gedächtnis I (2)	Verbales Gedächtnis	Allgemeines Gedächtnis
Verbale Paarerkennung I (1)		
Figurales Gedächtnis (1)	Visuelles Gedächtnis	
Visuelle Paarerkennung I (1)		
Visuelle Wiedergabe I (1)		
Mentale Kontrolle (1)	Aufmerksamkeit / Konzentration	
Zahlenspanne (2)		
Blockspanne (2)		
Logisches Gedächtnis II (1)	Verzögerte Wiedergabe	
Visuelle Paarerkennung II (2)		
Verbale Paarerkennung II (2)		
Visuelle Wiedergabe II (1)		

2.2.1.3 Figurales Gedächtnis

Dem Probanden werden für einige Sekunden Muster gezeigt, die er danach aus einer Reihe von Mustern wiedererkennen soll. Insgesamt besteht der Test Figurales Gedächtnis aus 4 Aufgaben. In der ersten Aufgabe soll das für 5 Sekunden gezeigte Muster aus insgesamt 3 Mustern wieder erkannt werden. Für die nächsten 3 Aufgaben werden dem Probanden jeweils 3 Muster für 15 Sekunden gezeigt, die er nachfolgend aus insgesamt 9 Mustern erkennen soll. Für jedes richtig erkannte Muster wird 1 Punkt gegeben. Maximal werden 10 Punkte erreicht.

2.2.1.4 Logisches Gedächtnis I (Textreproduktion I)

Dem Probanden werden Geschichten erzählt, die er im Anschluss an jede Geschichte möglichst genau wiedergeben soll. Es werden 2 Geschichten vorgelesen, die gleich lang sind. Die Antworten werden jeweils wortwörtlich protokolliert und mittels genauer Auswertungsrichtlinien ausgewertet. Maximal werden 50 Gesamtpunkte erreicht. Am Anschluss an diesen Test wird der Proband darauf hingewiesen, dass er zu einem späteren Zeitpunkt nochmals nach den Geschichten befragt wird, und dass er diese nicht vergessen soll.

2.2.1.5 Visuelle Paarererkennung I

Dem Probanden werden 6 Strichfiguren, jeweils gepaart mit einer bestimmten Farbe gezeigt. Anschließend werden ihm die Strichfiguren alleine gezeigt und er soll auf einer Farbtafel, auf der alle 6 zuvor dargebotenen Farben dargestellt sind, die dazugehörige Farbe zeigen. Die 6 Farben-Figuren-Paare werden ihm für jeweils 3 Sekunden demonstriert. Anschließend werden nur die Figuren gezeigt und er wird gebeten, auf die dazugehörige Farbe an der Farbtafel zu deuten.

Nach Beendigung des ersten Durchgangs folgt ein zweiter, in dem die gleichen Paare in einer anderen Reihenfolge gezeigt werden. Danach wird der Proband nach der Farbe zu der jeweiligen Figur befragt. Insgesamt gibt es 6 solcher Durchgänge, wobei die ersten 3 auf jeden Fall durchgeführt werden. Wenn der Proband nach dem dritten Durchgang alle Paare richtig zugeordnet hat, wird der Untertest beendet. Ansonsten

wird solange ein weiterer Durchgang durchgeführt, bis der Proband alle Paare richtig erkennt bzw. bis der sechste Durchgang beendet ist. Die Gesamtpunktzahl berechnet sich anhand der richtigen Antworten der ersten drei Durchgänge.

Es werden maximal 18 Gesamtpunkte erreicht. Im Anschluss wird der Proband darauf hingewiesen, dass er zu einem späteren Zeitpunkt nochmals nach den Paaren befragt wird und dass er versuchen soll, diese in Erinnerung zu behalten.

2.2.1.6 Verbale Paarerkenntung I

Der Untertest Verbale Paarerkenntung I ist das verbale Pendant zu dem vorherigen Untertest. Es werden dem Probanden 8 Wortpaare vorgelesen, 4 davon sind leicht, 4 sind schwer. Anschließend wird ihm jeweils nur das erste Wort vorgelesen und er soll das dazugehörige Wort nennen.

Die Aufgabe wird zwei weitere Male wiederholt, wobei die Wortpaare in unterschiedlicher Reihenfolge vorgelesen werden. Analog dem Untertest Visuelle Paarerkenntung I werden maximal 6 Durchgänge durchgeführt, wobei die ersten 3 auf jeden Fall durchgeführt und auch nachher bewertet werden. Es können maximal 24 Gesamtpunkte erreicht werden. Anschließend wird der Proband gebeten, sich die Wortpaare für einen späteren Zeitpunkt zu merken.

2.2.1.7 Visuelle Wiedergabe I

Dem Probanden werden Karten mit Zeichnungen für jeweils 10 Sekunden gezeigt, die er im Anschluss an jede Karte möglichst genau, detailgetreu und sorgfältig nachzeichnen soll. Insgesamt werden 4 Zeichnungen ansteigender Schwierigkeit gezeigt. Für das Nachzeichnen gibt es kein Zeitlimit. Für die Auswertung stehen detaillierte Kriterien mit Beispielen zur Verfügung. Es werden maximal 41 Gesamtpunkte erreicht. Im Anschluss wird der Proband darauf hingewiesen, dass er zu einem späteren Zeitpunkt die Zeichnungen nochmals wiedergeben soll und wird gebeten zu versuchen, diese in Erinnerung zu behalten.

2.2.1.8 Zahlenspanne

Der Untertest Zahlenspanne besteht aus zwei Aufgabentypen: der „Zahlenspanne vorwärts“ und der „Zahlenspanne rückwärts“.

Bei der Zahlenspanne vorwärts werden dem Probanden Zahlenreihenfolgen wachsender Länge vorgelesen, die dieser im unmittelbaren Anschluss wiedergeben soll. Die vorgesagten Zahlenspannen werden mit jedem Durchgang um eine Zahl länger, bis zu 8 Zahlen. Für jede Aufgabe gibt es 2 Durchgänge. Die Zahlenspanne vorwärts wird beendet, wenn in beiden Durchgängen die Zahlenreihen nicht richtig wiedergegeben werden.

Bei der Zahlenspanne rückwärts werden dem Probanden ebenfalls Zahlenreihen wachsender Länge vorgelesen, die der Proband diesmal in umgekehrter Reihenfolge wiedergeben soll. Die Zahlenreihen werden bis zu 7 Zahlen lang. Für jede Aufgabe gibt es 2 Durchgänge. Der Untertest wird beendet, wenn beide Durchgänge einer Aufgabe nicht richtig wiedergegeben werden. Für jede korrekt nachgesprochene Zahlenreihe gibt es einen Punkt. Somit können insgesamt maximal 28 Punkte erreicht werden.

2.2.1.9 Blockspanne (Visuelle Merkspanne)

Auf einem Blockspannbrett sind unregelmäßig angeordnete Würfel angebracht. Die Würfel werden von dem Untersucher in einer bestimmten Reihenfolge angetippt, die der Proband in unmittelbarem Anschluss wiedergeben soll. Der Test besteht aus 2 Aufgabentypen, einmal die „Blockspanne vorwärts“, wo die gezeigte Reihenfolge genauso wiedergegeben werden soll und die „Blockspanne rückwärts“, wo die Blöcke in umgekehrter Reihenfolge gezeigt werden sollen. Für die Blockspanne vorwärts gibt es 7 Aufgaben, für die Blockspanne rückwärts 6. Nach jeder Aufgabe wird die Zahl der zu merkenden Würfel erhöht. Für jede Aufgabe gibt es 2 Durchgänge, für jede korrekt wiedergegebene Reihenfolge gibt es 1 Punkt, somit können maximal 26 Gesamtpunkte erzielt werden. Die jeweilige Aufgabe wird abgebrochen, wenn der Proband in beiden Durchgängen einer Aufgabe die Folge nicht richtig wiederholt.

2.2.1.10 Logisches Gedächtnis II (Verzögerte Textproduktion)

Die Geschichten aus dem Untertest Logisches Gedächtnis I (Kapitel 2.2.1.4) sollen möglichst genau wiedergegeben werden. Zwischen den beiden Tests müssen unbedingt 30 Minuten liegen. Ggf. muss eine Pause eingelegt werden. Es sind bestimmte Hilfestellungen erlaubt, falls sich der Proband nicht an die Geschichten erinnern kann. Die Auswertung erfolgt wie in dem Untertest Logisches Gedächtnis I. Es können insgesamt maximal 50 Punkte erreicht werden.

2.2.1.11 Visuelle Paarerkennung II

Der Proband soll die im Untertest Visuelle Paarerkennung I (Kapitel 2.2.1.5) gezeigten Paare wiedergeben. Dazu werden ihm die Strichzeichnungen gezeigt und er soll die dazugehörige Farbe auf einer Farbtafel zeigen. Die Aufgabe wird 1-mal durchgeführt, somit können maximal 6 Gesamtpunkte erzielt werden.

2.2.1.12 Verbale Paarerkennung II

Der Proband soll die im Untertest Verbale Paarerkennung I (Kapitel 2.2.1.6) vorgelesenen Wortpaare wiedergeben. Dazu werden ihm jeweils die ersten Worte der Paare genannt und er soll die dazugehörigen Worte nennen. Für jedes richtig genannte Wortpaar gib es 1 Punkt, somit können maximal 8 Punkte erreicht werden.

2.2.1.13 Visuelle Wiedergabe II

Der Proband soll die im Untertest Visuelle Wiedergabe I (Kapitel 2.2.1.7) gezeigten Zeichnungen in beliebiger Reihenfolge möglichst genau und detailgetreu nachzeichnen. Hierbei darf keine Hilfestellung geleistet werden. Die Aufgaben werden analog dem Untertest Visuelle Wiedergabe I mittels des Testmanuals bewertet. Es können maximal 41 Gesamtpunkte erreicht werden.

2.2.2 Auswertung der WMS-R

Für die Auswertung der Ergebnisse werden die Rohwerte der einzelnen Untertests in den Auswertungsbogen eingetragen, mit einem speziellen Gewicht multipliziert und die 5 Leistungsaspekte entsprechend zusammengezählt (s. Tab. 2, S. 43). Die Summenwerte werden entsprechend der Altersgruppe mit Hilfe einer Tabelle in Indizes umgewandelt.

Der Test ist für das Alter von 15-75 Jahre normiert. Im Testmanual der WMS-R (Härting et al., 2000) wurden aus einer Stichprobe von 210 Probanden 7 Altersgruppen aus jeweils 30 Probanden gebildet. Dabei wurden das Geschlecht und die Bildung mitberücksichtigt. Für jede Altersgruppe wurden Mittelwerte und Standardabweichungen der Indizes berechnet. Die Schichtung der Stichprobe erfolgte mit Hilfe der demographischen Daten des statistischen Jahrbuchs der Bundesrepublik Deutschland von 1995. Dadurch sollte eine möglichst repräsentative Datenerhebung sichergestellt werden. Aus dieser Stichprobe wurden Mittelwerte für die Untertests und Leistungsaspekte der WMS-R ermittelt.

Um die Skala zu standardisieren, wurden die Summenrohwerte der Probanden aus der Stichprobe mit Hilfe von univarianten Varianzanalysen (ANOVA) auf Geschlechts-, Alters- und Bildungsunterschiede hin geprüft (Härting et al., 2000). Hinsichtlich des Geschlechts waren keine signifikanten Unterschiede zwischen Männern und Frauen zu eruieren, daher ist eine Anpassung der Ergebnisse hinsichtlich des Geschlechts nicht nötig. Für die einzelnen Leistungsaspekte ergab sich ein signifikanter Alterseffekt, daher ist es sinnvoll, die Ergebnisse in Altersgruppen entsprechend einzuteilen. Ebenfalls zeigte sich ein Einfluss der Schulbildung auf die Ergebnisse. Im Testmanual ist eine Normentabelle für Abiturienten dargelegt, sonst wird aber keine Gruppeneinteilung nach dem Bildungsgrad vorgesehen.

2.2.3 Statistische Eigenschaften der WMS-R

2.2.3.1 Reliabilität

Um die Reliabilität für die Untertests zu bestimmen, wurden mittels einer Retest-Untersuchung die Stabilitätskoeffizienten berechnet. Es ergaben sich Werte zwischen

0.42 und 0.88 für die Untertests und Leistungsaspekte. Die Reliabilität der Indizes ist $>0,8$.

2.2.3.2 Validität

Die Validität der WMS-R wurde bestimmt, indem Patienten mit Depression und beginnender Demenz untersucht wurden. Hierzu zeigten sich plausible Ergebnisse, sodass eine Abgrenzung zwischen der beginnenden Demenz und kognitiven Defiziten bei einer Depression möglich ist.

2.3 Laborverfahren

In der Abteilung für Molekulare und Klinische Neurobiologie der LMU-München fand die Genotypisierung der SNPs mittels iPlex-Verfahren statt.

2.3.1 DNA-Extraktion

Zunächst wurde allen Probanden venöses Blut entnommen. Die Monovetten enthielten EDTA, um die Blutgerinnung zu verhindern. Die Proben wurden kodiert, um die Anonymität zu gewährleisten und bei -80°C gelagert. Die DNA-Extraktion aus 5-10 ml Blut erfolgte mit dem QiaAmp DNA blood Maxi Kit der Firma Qiagen.

2.3.1.1 Vorbereitung der Blutproben und Zelllyse

Das Blut wurde bei Raumtemperatur aufgetaut. Um die Lyse der Leukozyten und die Freisetzung der Nukleinsäuren zu erreichen, wurden jeweils 5-10 ml Blut mit 500 μl Proteinase K versetzt. Dadurch wird erzielt, dass die denaturierten Proteine (besonders Hämoglobin, Nukleasen, Histone, u.a.) durch die Proteinase K verdaut und zu kleinen Fragmenten denaturiert werden, um sie leicht von der DNA trennen zu können. Anschließend wurde ein Guanidin-HCl-haltiger AL-Puffer (12 ml) zugegeben, um die Hydrathülle der DNA zu entziehen, damit sie sich später an die Silikagel-Säule zu binden vermag. Die Lösung wurde dann für 2 Minuten auf dem

Vortexer durchgemischt, damit die Zelllyse vollständig ist. Die Lösung wurde danach unter gleichzeitigem Schütteln für mindestens 30 Minuten im 70°C heißen Wasserbad inkubiert, um einen maximalen DNA-Ertrag zu erzielen (s. Abb. 6, S. 51).

2.3.1.2 Adsorption der DNA an die Silikagel-Membran

Um die DNA auf das Säulenmaterial zu fällen, wurden 10 ml Ethanol (96-100%) in die Probe gegeben. Die Probe wurde für 2 Minuten auf dem Vortexer gemischt, danach auf die Silikamembran gegeben und sukzessive zentrifugiert. Die DNA bindet so an die Silikamembran, während RNA und Nukleinsäure-bildende Proteine, welche die spätere PCR stören könnten, ungebunden bleiben (s. Abb. 6, S. 51).

2.3.1.3 Reinigung der DNA durch Waschen von Verunreinigungen von der Säule

Die Säule wurde zunächst mit 5 ml Guanidin-haltigem HCl-Puffer (Waschpuffer AW 1) gewaschen, um RNA- und Proteinverunreinigungen zu entfernen. Anschließend wurde sie mit 5 ml ethanolhaltigem Puffer (Waschpuffer AW 2) gewaschen, um die Guanisiumsalze zu entfernen (s. Abb. 6, S. 51).

2.3.1.4 Elution der DNA von der Silikamembran

Die Filter wurden anschließend in sterile Falcon-Röhrchen überführt. Die Elution von der Silikamembran wurde unter Zugabe von 2x600 µl AE-Puffer (Tris-Puffer, pH > 9,0) durchgeführt. Die DNA wurde dazu für 5 Minuten bei Raumtemperatur mit dem AE-Puffer inkubiert und für weitere 5 Minuten bei 5000 rpm zentrifugiert. Durch den basischen Tris-Puffer ließ sich die unter saurem Milieu an die Silikamembran gebundene DNA eluieren und verblieb im AE-Puffer (s. Abb. 6, S. 51).

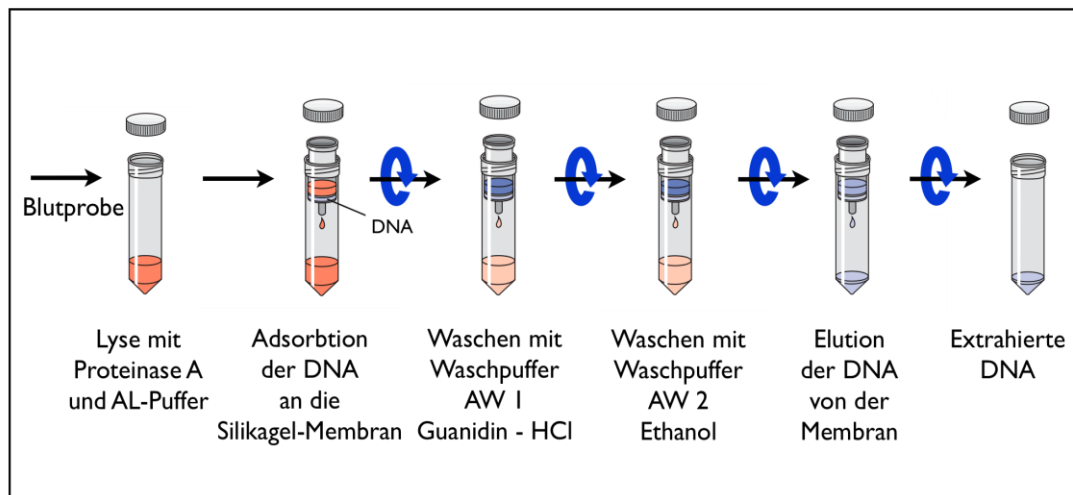


Abb. 6 DNA-Extraktion nach der Anleitung des QIAamp DNA Blood Midi/Maxi Handbuch (Quiagen, 2005)

2.3.2 DNA-Konzentrationsmessung

Die DNA-Quantifizierung wurde mittels des ultraspektiven DNA-Fluoreszenzfarbstoffs PicoGreen (PicoGreen dsDNA, quantitation reagent, PicoGreen Molecular Probes), der mit einsträngiger DNA interkaliert, und eines Mikrotiterplatten-Fluoreszenzlesers (Victor³ 1420 Multilabelcounter) durchgeführt. Die Berechnung der DNA-Konzentration erfolgte anhand einer Eichkurve aus genomischer DNA bekannter Konzentration. Für die qualitativen SNP-Genotypisierungen wurde eine Genauigkeit der gemessenen DNA von $\pm 10\%$ als hinreichend angesehen.

2.3.2.1 Herstellung der Standard DNA Verdünnungsreihe

Die Verdünnungsreihe wird, ausgehend von humaner genomischer DNA mit bekannter Konzentration (100 ng/ μ l, Clontech), jeweils 1:1 mit bidestilliertem Wasser verdünnt und durch mehrmaliges Umrühren mit der Pipettenspitze gemischt. Die jeweilige Verdünnung dient als Ausgangssubstanz für die nächst niedrigere Konzentration. Zunächst wurden 100 μ l bidestilliertes Wasser auf die ersten zwei Reihen einer 96 well Platte mit flachem Boden (Säulen B-H, Abb. 7, S. 52) pipettiert. Anschließend wurden 200 μ l der humanen genomischen DNA (hDNA) in die ersten zwei Reihen der Säule A pipettiert.

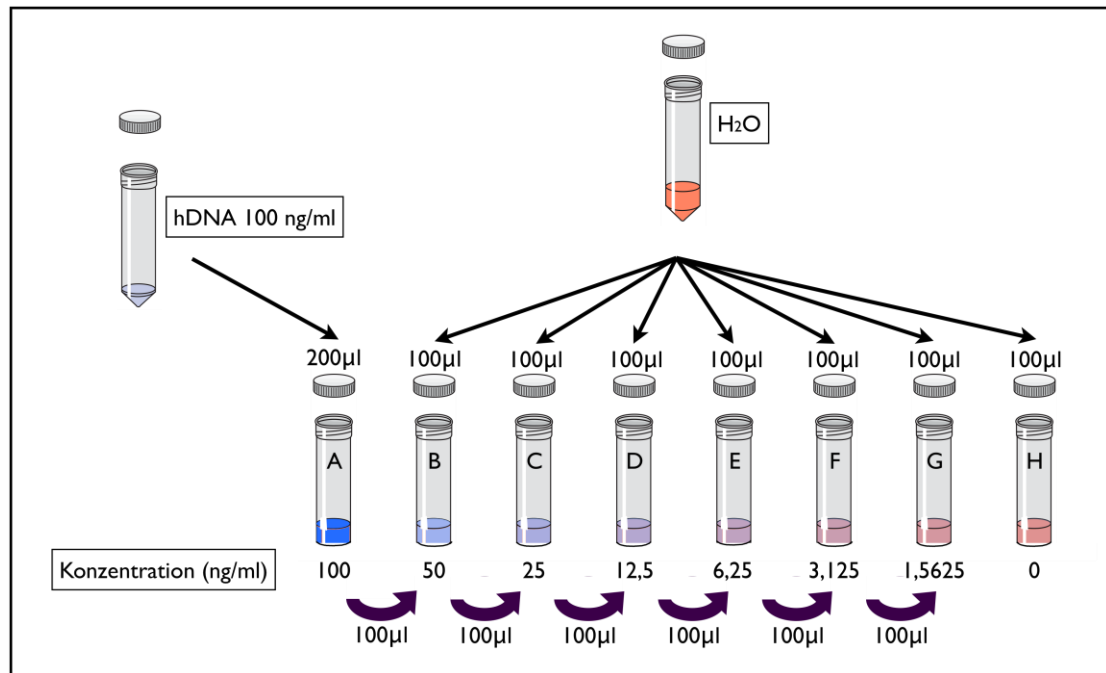


Abb. 7 Durchführung der Verdünnungsreihe.

Tabelle 3 Konzentration der gDNA in den einzelnen Säulen

Reihen / Säulen		Konzentration (ng/ml)	Volumen (µl)
A1	A2	100	200
B1	B2	50	200
C1	C2	25	200
D1	D2	12,5	200
E1	E2	6,25	200
F1	F2	3,125	200
G1	G2	1,5262	200
H1	H2	0	100

Beginnend mit der Säule A wurde eine Verdünnungsreihe hergestellt. Von Säule A wurden 100 µl entnommen und in Säule B pipettiert. Nach fünfmaligem Umrühren mit der Pipettenspitze wurden 100 µl aus der Säule B entnommen und in Säule C pipettiert. Ähnlich wurde dann mit den Säulen D-G verfahren. Säule H wurde zur

Bestimmung des Referenzwertes (0 ng/ml gDNA) benutzt. Die Platte wurde versiegelt und als Standard DNA beschriftet bei 4°C gekühlt gelagert.

Die Arbeitsschritte sind in Abb. 7 (S. 52) dargestellt und man erhält die in Tabelle 3 (S. 52) angegebenen Konzentrationen.

2.3.2.2 Vorverdünnung der DNA Stammlösung

Die DNA Stammlösung, extrahiert aus Blut, Zellen oder Gewebe, wird 1:10 vorverdünnt, weil sonst die Konzentration den Messbereich für die Messung übersteigt. Dazu werden mit dem Roboter (Janus Automated Workstation, Perkin Elmer) 5 µl DNA (Stammlösung) und 45 µl H₂O (bidest.) auf eine AB *gene 96 well* Platte pipettiert.

2.3.2.3 Herstellung des PicoGreen Gemischs

Die gefrorenen Picogreen-Reagenzien wurden für ca. 60 Minuten bei Raumtemperatur in einem lichtundurchlässigen Behälter aufgetaut. Danach wurde die Verdünnung von 1:200 PicoGreen mit 1xTE in einem lichtundurchlässigen 50 ml Röhrchen durchgeführt. Die Reagenzien wurden mit Hilfe des Vortexers gemischt, um eine homogene Lösung zu erzielen.

2.3.2.4 Vorbereitung der Messplatte

Alle hier angegebenen Pipettierschritte wurden mit dem Roboter (Janus Automated Workstation, Perkin Elmer) durchgeführt.

Auf eine Messplatte (*96 well flat bottom plate, black*, Greiner) wurden 50 µl H₂O (bidest.) pipettiert. In die Spalten 1 und 2 der *96 well* Platte wurden in Duplikaten je 5 µl der Standard hDNA Verdünnungsreihe pipettiert. Die restlichen Spalten der Messplatte wurden mit Duplikaten von je 5 µl der vorverdünnten DNA befüllt. Daraufhin wurden jeweils 145 µl des PicoGreen Gemischs auf die vorgelegte DNA pipettiert.

Die vorbereitete Messplatte wurde von einem Gripper in das Fluoreszenzmessgerät transportiert.

2.3.2.5 Messung der DNA-Konzentration

Die Messung der DNA-Konzentration wurde im Victor³ 1420 Multilabelcounter durchgeführt. Da es bereits nach 15 Minuten zu einem signifikanten Abfall der Fluoreszenz kommt, wurde die Fluoreszenz nach einer Reaktionszeit von 5-10 Minuten sofort gemessen.

Die Messplatte wurde für 30 Sekunden in Doppelkreisen geschüttelt. Zur Messung der Fluoreszenz wurde eine Anregungswellenlänge von 485 nm verwendet und die Emission bei 535 nm gemessen. Die Messzeit betrug pro *well* 0,1 Sekunden.

Die Messergebnisse wurden an den Computer (Optiplex GX620 Pentium 4 HT, Dell) weitergeleitet. Dieser berechnete den Mittelwert aus den Doppelbestimmungen.

2.3.2.6 Einstellung der DNA-Konzentration auf 50 ng/μl

Anhand der ermittelten Konzentrationswerte wurde automatisch das Verhältnis von H₂O (bidest.) zu dem DNA-Volumen der Ausgangslösung bestimmt, das nötig wäre, um eine Arbeitslösungskonzentration von 50 ng/μl zu erreichen. Vom Roboter wurde eine Konzentrationseinstellung von 500 μl Arbeitslösung durchgeführt.

2.3.3 Genotypisierung

2.3.3.1 Der SNP rs16118

Der in dieser Dissertation untersuchte SNP rs16118 befindet sich in Bezug auf das NPY-Gen außerhalb des Gens, auf Position 24303347 (s. Abb. 8, S. 55). Die Base Guanin (G) wird durch die Base Cytosin (C) ersetzt. Seine Funktion ist bisher

unbekannt (NCBI, 2011b). Der SNP rs16118 liegt 5336 bp 3' von dem NPY-Gen entfernt.

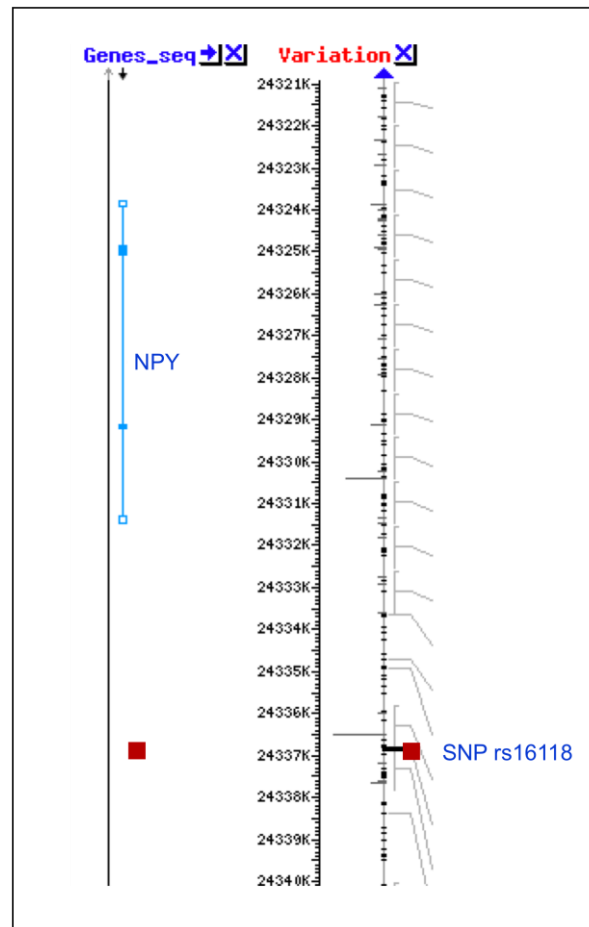


Abb. 8 Lage des SNP rs16118 in Bezug auf das NPY-Gen auf Chromosom 7

2.3.3.2 Assaydesign

Der Assay für den SNP rs16118 des NPY-Gens wurde mit Hilfe der Spectro Designer Software (Firma Sequenom, San Diego, CA) entworfen (s. Tab 4 + 5, S. 56).

Die PCR-Primer wurden so geplant, dass sie möglichst nahe an dem zu amplifizierenden SNP liegen, um sicherzustellen, dass nur diese Region im Genom amplifiziert wird. Sie sollten mindestens 10 bp von dem Polymorphismus entfernt ansetzen und folgende Kompositionskriterien erfüllen:

- G+C 40-70%
- Mischung aus allen 4 Basen

- Verteilung der Basen im Primer: maximal 4 Wiederholungen derselben Base hintereinander

Der Extensionsprimer wurde so gewählt, dass er genau neben dem Polymorphismus zum Liegen kam und die Extension über dem Polymorphismus vernünftige Produkte lieferte.

Es wurde sichergestellt, dass jeder Primer nur 1-mal im Genom bindet und nicht mit anderen Primern reagiert.

Tabelle 4 Lokalisation des SNP

SNP-ID	Chromosom 7 Position	Allele	Funktion	Position im Gen
rs16118	24303347	C / G	unbekannt	intergenisch

Tabelle 5 Primersequenz

Primer	Sequenz
Primer 1 (forward)	ACGTTGGATGGAAACACCTCATTCAAAAGG
Primer 2 (reverse)	ACGTTGGATGCCATGCAGAACATTGGAATC
Extend Primer	CATCAGAACTAAACAAATACCTTTT

2.3.3.3 iPLEX™ Assay- Verfahren

Das iPLEX-Verfahren beruht aus zwei Grundsritten: eine konventionelle PCR-Reaktion des zu untersuchenden Genombereichs und eine spezielle PCR-Reaktion, bei der für jedes Allel des SNPs ein massenspezifisches Produkt entsteht.

2.3.3.3.1 Die Polymerase-Kettenreaktion

Die Polymerase-Kettenreaktion (PCR; engl. *polymerase chain reaction*) ist eine Methode zur millionenfachen *in-vitro*-Amplifizierung von DNA-Sequenzen aus dem Genom. Sie wird eingesetzt, um einen kurzen, genau definierten Teil eines DNA-Stranges zu vervielfältigen, wobei es sich dabei um ein ganzes Gen oder nur einen Teil des Gens handeln kann.

Das Prinzip der PCR wird in Abb. 9 (S. 59) am Beispiel der Amplifizierung einer spezifischen Sequenz eines DNA-Doppelstranges dargestellt. Die hierzu benötigten Komponenten sind:

- die Original-DNA mit dem zu vervielfältigenden Abschnitt
- zwei kurze (ca. 20 Nukleotide lange) synthetische Oligonukleotide, die Primer, welche an jeweils einem Ende der DNA-Zielsequenz binden können und dadurch den zu vervielfältigenden Bereich eingrenzen
- DNA-Polymerase, die bei hohen Temperaturen nicht zerstört wird (Taq-Polymerase; aus thermophilen Bakterien hergestellt, z.B. *Thermus aquaticus*)
- Desoxynukleotidtriphosphate (dNTPs) im Überschuss, als Bausteine für den neu synthetisierten DNA-Strang (dGTP, dATP, dCTP, dTTP)
- Magnesium-Ionen und ein Puffersystem, um die für die Funktion der Polymerase geeignete chemische Umgebung herzustellen (pH 8,8)

Im Gesamtvolumen des PCR-Gemisches waren 5-10 ng genomische DNA, 0,5 u HotStar Taq-Polymerase (Qiagen), 100 nmol genspezifische PCR-Primer, 1,25-mal HotStar Taq-Puffer (Qiagen), 1,625 mmol Magnesiumchlorid und 500 µmol dNTPs enthalten.

Die gesamte Reaktion besteht aus drei Schritten bei jeweils unterschiedlichen Temperaturen, die in Zyklen wiederholt werden (Abb. 9, S. 59):

1. Denaturierung

Der DNA-Doppelstrang wird durch Erhöhung der Temperatur auf ca. 94°C für 15 Minuten in seine zwei Einzelstränge aufgetrennt. Die Denaturierung findet bei 94°C für 20 Sekunden statt.

2. Anlagerung der Primer

Die Temperatur wird danach auf 56°C für 30 Sekunden abgesenkt, was den Primern (Tab. 5, S. 56) erlaubt, sich spezifisch an den komplementären DNA-Strang anzuheften.

3. Elongation

Die Temperatur wird auf 72°C für die Dauer von einer Minute erhöht, um die Elongation zu erreichen. Die DNA-Polymerase beginnt am jeweiligen 3'-Ende der Primer den Kettenaufbau durch den Einbau von dNTPs. Dadurch werden die beiden Einzelstränge jeweils zu einem Doppelstrang komplementiert.

Dieser Zyklus wird anschließend 44-mal bei 72°C wiederholt. Die DNA-Doppelstränge verdoppeln sich nach jedem Zyklus und werden jeweils im nächsten Zyklus zum Ausgangsmaterial. Dadurch ergibt sich eine exponentielle Zunahme der amplifizierten DNA-Moleküle.

Die Proben werden zur finalen Extension für 10 Minuten auf 72°C gehalten, um sie danach auf 4°C herabzukühlen, wo sie dann für das weitere Vorgehen aufbewahrt werden.

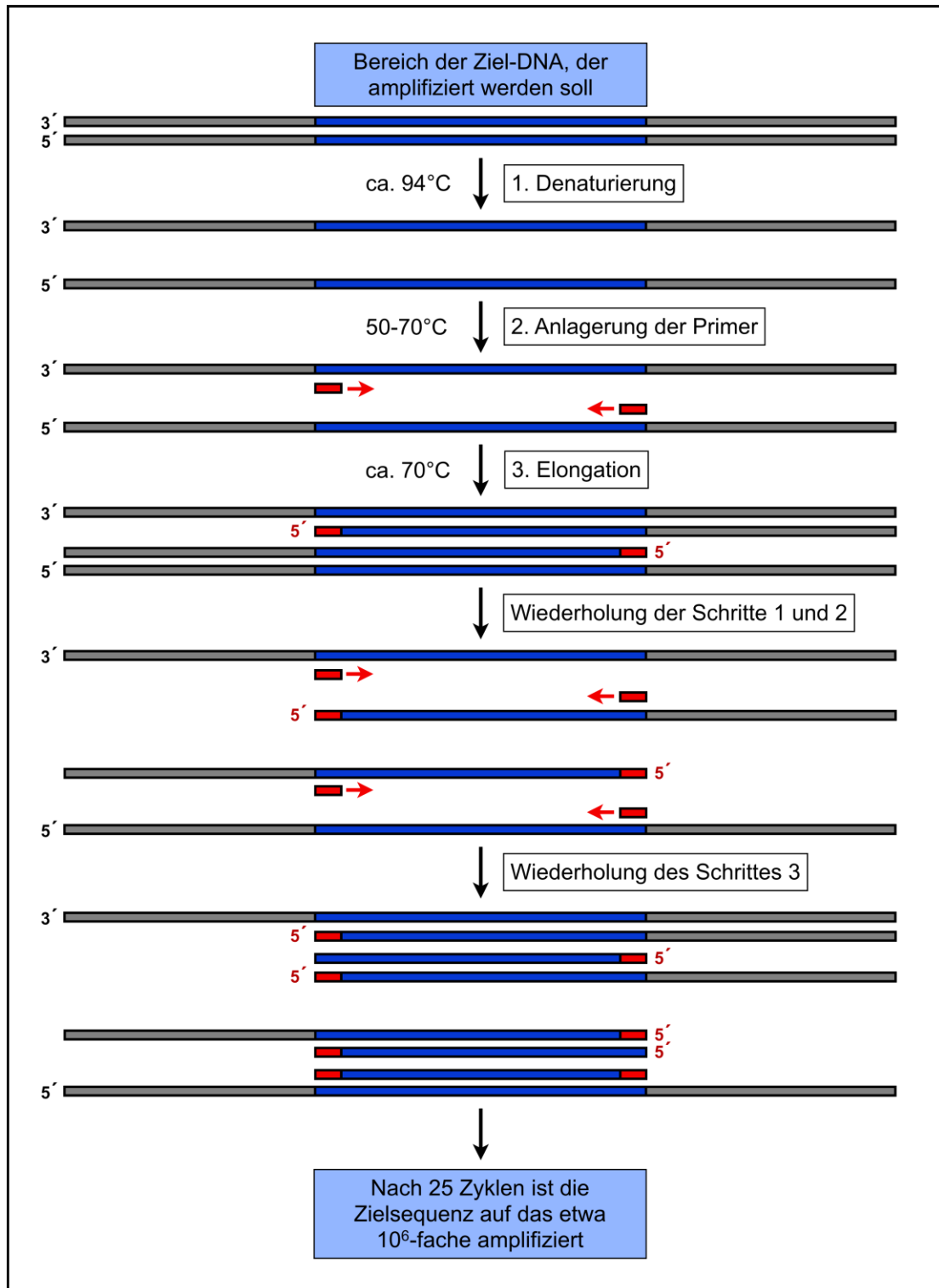


Abb. 9 Grundprinzip der Polymerasekettenreaktion (PCR)

2.3.3.3.2 Dephosphorylierung

Da nicht alle Nukleotide (dNTPs) bei der PCR eingebaut werden, können diese eine spätere Messung im Massenspektrometer stören. Daher wurden sie mit dem Enzym SAP (Shrimp alkaline phosphatase) inaktiviert.

Hierfür wurde ein SAP Mix angesetzt, der pro Probe aus 0,170 µl SAP-Puffer, 0,300 µl SAP-Enzym und 1,530 µl H₂O bestand. 2 µl des SAP Mix wurden zu jeder PCR-Reaktion hinzugegeben und vorsichtig gemischt. Die mit SAP behandelten PCR-Reaktionen wurden in einem Thermocycler bei 37°C für 20 Minuten inkubiert, das Enzym anschließend für 5 Minuten bei 85°C inaktiviert und auf 4°C abgekühlt.

2.3.3.3.3 Extensionsreaktion

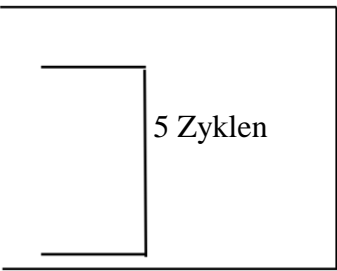
Es erfolgte anschließend eine Primer-Extensions-Reaktion, bei der der Extensionsprimer genau vor dem zu untersuchenden SNP an das PCR-Produkt bindet. Dieser Extensions-Primer wurde anschließend bei einer enzymatischen Polymerasereaktion verlängert. Die Reaktion wurde in Gegenwart einer definierten Mischung aus Desoxyribonukleotiden und Didesoxynukleotiden (dNTPs und ddNTPs) durchgeführt, wobei bei letzteren die Kettenverlängerung nach dem Einbau gestoppt wird. Dadurch entstehen Extensionsprodukte unterschiedlicher Länge und Molekülmasse.

Die Extensionsreaktion wurde nach dem Assay der Firma Sequenom durchgeführt.

iPLEX-Reaktion

Zuerst wurde ein iPLEX-Cocktail, bestehend aus 0,755 µl H₂O, 0,200 µl iPLEX-Puffer, 0,200 µl iPLEX-Abbruch Mix, 0,804 µl Primer Mix und 0,041 µl iPLEX Enzym in jedes *well* pipettiert.

Die PCR wurde in einem Thermocycler durchgeführt. Das Programm ist zweistufig und benutzt zwei Durchlaufschleifen, eine äußere Schleife, welche aus fünf inneren Schleifen besteht, die 40 Mal durchlaufen wird. Die Extensionsreaktion wurde wie folgt durchgeführt:

- 94°C für 30 Sekunden (Denaturierung)
 - 94°C für 5 Sekunden
 - 52°C für 5 Sekunden
 - 80°C für 5 Sekunden
 - 72°C für 3 Minuten
 - 4°C
- 

Es wurden demnach insgesamt 200 (5x40) Extensionszyklen durchgeführt. Die Proben wurden anschließend bei 4°C gekühlt gelagert.

Reinigung

Die Proben wurden anschließend mit einem Ionenaustauschharz (SpectroClean, Firma Sequenom) aufbereitet, um Kationen zu entfernen, welche die anschließende MALDI TOF-Messung gestört hätten.

Auftragen auf SpectroCHIP Bioarrays

15 nl von jeder Probe wurden mittels des MassARRAY Nanodispensers (Firma Sequenom) auf Siliziumchips transferiert (384-element SpectroCHIP bioarray). Die auf den Chips befindliche Matrix bestand aus 3-Hydroxypicolinsäure (3-HPA). Dazu wurden Kalibranten aus einer Mischung von Oligonukleotiden bekannter Masse aufgetragen, um das Analysesystem zu kalibrieren.

2.3.3.4 MALDI-TOF Massenspektrometrie

Die Analysen der Genotypisierung der DNA-Proben erfolgte dann mittels des MASS ARRAY *Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time of Flight* Systems (MASS ARRAY MALDI-TOF System). Das MALDI-TOF ist ein massenspektrometrisches Verfahren, das die Kopplung der Matrix gestützten Laserdesorption und Ionisation

(engl. *matrix assisted laser desorption and ionization*, MALDI) mit einem Flugzeitanalysator (engl. *time of flight*, TOF) beinhaltet.

Prinzip der MALDI-TOF

Der MALDI-Prozess

Die Probe wird mit einem Überschuss an Matrix, meist bestehend aus kleinen aromatischen Säuren, gemischt. Nach Verdunstung des Lösungsmittels erfolgt eine Kokristallisation zwischen Probe und Matrix. Anschließend wird ein kurzer Laserpuls auf den Kokristall gelenkt. Die Energie des Laserstrahls wird von der Matrix absorbiert (Desorption) und auf die in der Matrix eingebetteten Probenmoleküle übertragen. Dadurch entstehen elektrisch geladene Moleküle (Ionisation). Als Folge dieses MALDI-Prozesses liegen in der Regel einfach geladene Analytmoleküle vor (s. Abb. 10). Diese Ionen werden anschließend in einem elektrostatischen Feld in Richtung eines Detektors beschleunigt. Dabei können positiv oder negativ geladene Teilchen durch die Polarität des Feldes selektiert werden.

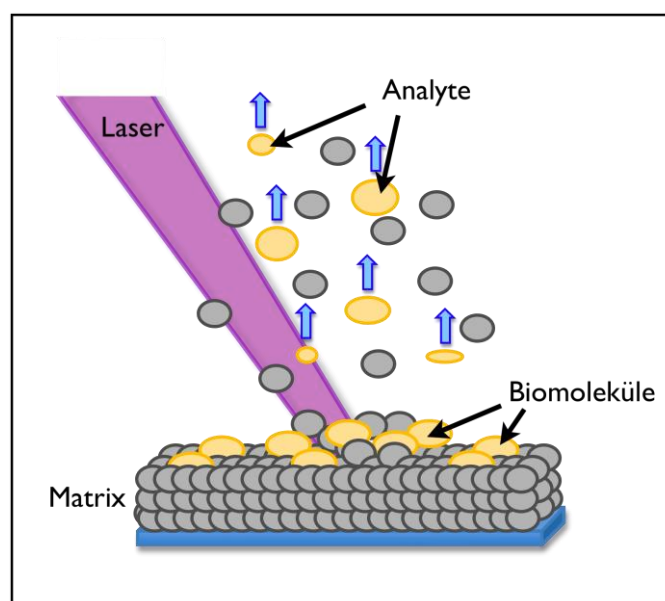


Abb. 10 Ionisation der Proben im Massenspektrometer

Kopplung mit dem Flugzeitanalysator (TOF)

Die Zeitspanne, die ein Ion benötigt, um die Strecke zwischen der Beschleunigungselektrode und dem Detektor zu durchfliegen, wird mit der

Verkopplung des Flugzeitanalysators bestimmt (TOF). Nach der Beschleunigung im elektrischen Feld haben die Ionen unterschiedliche Geschwindigkeiten, abhängig von ihrem Massen-Ladungs-Verhältnis (m/z -Wert). Da sie mit zunehmender Masse eine längere Zeit benötigen, kann somit die Molekularmasse der Moleküle bestimmt werden (s. Abb. 11).

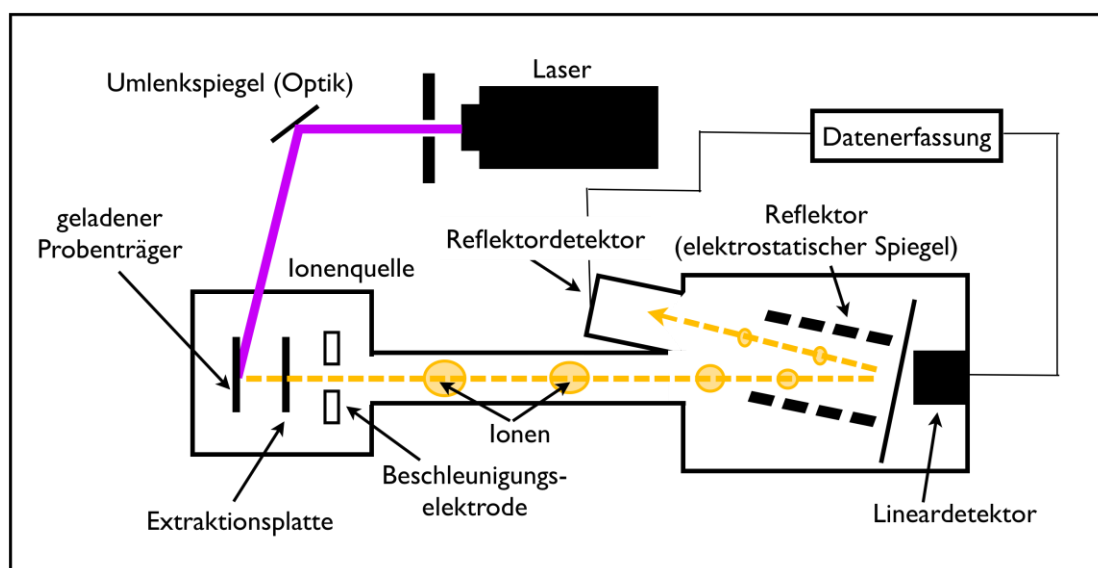


Abb. 11 Aufbau des Massenspektrometers

In der Primerextensions-Reaktion wird der Primer (Tab. 5, S. 56) durch die spezifisch ausgewählten massenmodifizierten ddNTPs, allelspezifisch um ein Nukleotid verlängert. Die einzelnen Nukleotide der DNA haben spezifische Molekularmassen: G (Guanin) 329 Da, A (Adenin) 313 Da, T (Thymin) 304 Da und C (Cytosin) 289 Da. Aufgrund der spezifischen Massendifferenzen der ddNTPs werden definierte verlängerte Oligonukleotide gebildet, deren Molekularmassen mit MALDI-TOF detektiert werden können. Durch die Kombination von einem SNP-spezifischen Set von dNTPs und ddNTPs entstehen bei heterozygoten Proben zwei Oligonukleotide, die sich um die Masse eines Nukleotids unterscheiden. Diese Massen können mittels der TYPER Analyser 3.3.0 Software der Firma Sequenom einem spezifischen Genotyp zugeordnet werden.

Das komplette Prinzip der Genotypisierung, bestehend aus PCR (s. Kap. 2.3.3.3.1), iPLEX-Reaktion (s. Kap. 2.3.3.3.3) und MALDI-TOF Massenspektrometrie (s. Kap. 2.3.3.4) wird in Abb. 12 (S. 64) dargestellt.

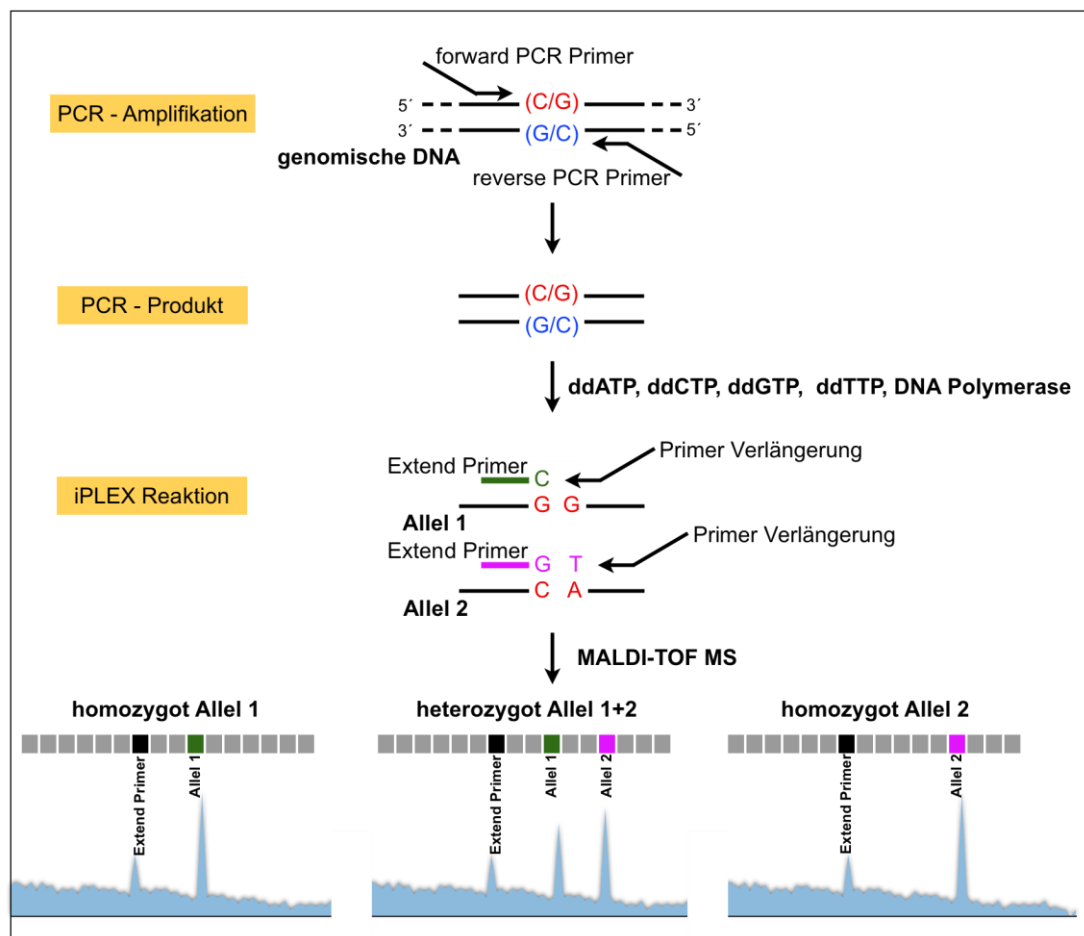


Abb. 12 Prinzip des iPLEX Assay

2.4 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung der Allel- und Genotypverteilungen der SNPs erfolgte mit Hilfe der Software *Statistical Package for Social Sciences* (SPSS 14.0, Inc Chicago, 2005). Die Verteilung der Genotypen wurde mittels des Hardy-Weinberg-Gleichgewichts getestet. Der χ^2 -Test diente der Signifikanzprüfung.

Es wurden Varianzanalysen mittels einer MANCOVA (*multiple analysis of covariance*) für die Leistungsaspekte Verbales Gedächtnis, Visuelles Gedächtnis, Allgemeines Gedächtnis, Aufmerksamkeit/Konzentration und Verzögertes Gedächtnis sowie die 13 Untertests berechnet. Hierbei wurden die Faktoren Genotyp (C/C, C/G, G/G) oder Allel (C/G) und Geschlecht (männlich, weiblich), Alter, Ausbildung und Gesundheitsstand (Schizophrenie/ohne psychiatrische Erkrankung) integriert. Die Genotypen oder Allele wurden als unabhängige Variablen (UV) mit

einberechnet. Die Ergebnisse in den 13 Untertests des WMS-R gingen als abhängige Variablen (AV) in die statistische Berechnung mit ein.

Für alle statistischen Berechnungen wurde ein Signifikanzniveau von $p < 0,05$ festgelegt. Ein Trend zur Signifikanz wurde bis $p < 0,10$ gewertet.

3. Ergebnisse

Im Rahmen der Studie zur Identifizierung und Assoziation eines Polymorphismus im NPY-Gen wurde die revidierte Fassung des Wechsler Gedächtnis Tests (WMS-R; deutsche Version), sowie die Genotypisierung des Polymorphismus rs16118 durchgeführt.

In die Auswertungen wurden die Kovariablen Geschlecht, Alter, Ausbildung und Gesundheitszustand (d.h. Schizophrenie/ohne psychiatrische Erkrankung) mit einbezogen.

Es wurde die Assoziation der Genotypen (CC, CG, GG) und der Allele (C, G) des SNPs rs16118 des NPY-Gens mit der Leistung bei der WMS-R untersucht. Betrachtet wurden die Ergebnisse der 5 Leistungsaspekte Verbales, Visuelles, Allgemeines und Verzögertes Gedächtnis sowie die Aufmerksamkeit, als auch die 13 Untertests. Des Weiteren wurde die Allel- und Genotypverteilung zwischen Patienten und Kontrollen verglichen, um zu klären, ob der untersuchte SNP grundsätzlich mit der Erkrankung im untersuchten Probandenkollektiv assoziiert ist.

Die Genotypverteilung war im Hardy-Weinberg-Equilibrium ($\chi^2 = 0,86$, $df = 2$, $p = 0,958$).

3.1 Genotyp

Die statistische Auswertung mittels der Varianzanalyse ergab die in Tabelle 6 (S. 67) veranschaulichte Genotypverteilung innerhalb der Probanden. Der Genotyp GG war bei den Patienten mit 17,6%, bei den Kontrollen mit 17,1% am seltensten vorhanden. Es fand sich kein signifikanter Unterschied in der Genotypverteilung zwischen Kontroll- und Patientengruppe ($\chi^2 = 0,086$, $df = 2$, $p = 0,958$).

Tabelle 6 Genotypverteilung des NPY-Polymorphismus rs 16118

Gruppe	Genotyp CC n (%)	Genotyp CG n (%)	Genotyp GG n (%)	Gesamt n
Kontrollen	88 (39,6)	96 (43,2)	38 (17,1)	222
Patienten	41 (38,0)	48 (44,4)	19 (17,6)	108
Gesamt	129 (39,1)	144 (43,6)	57 (17,3)	330

3.1.1 Ergebnisse der Genotypen des NPY Polymorphismus rs16118 in den WMS-R Leistungsaspekten

Um Hinweise auf eine mögliche Assoziation zwischen den Genotypen des SNPs rs16118 mit der Gedächtnisleistung zu erhalten, wurden die Ergebnisse der Genotypen in den 5 WMS-R Leistungsaspekten miteinander verglichen (s. Tab 7).

Tabelle 7 Resultate der Leistungsaspekte der WMS-R assoziiert mit den Genotypen des NPY-Polymorphismus rs16118

WMS-R Leistungsaspekt	Genotyp			F	p
	C/C (n=129) MW (SD)	C/G (n=144) MW (SD)	G/G (n=57) MW (SD)		
Verbales Gedächtnis	81,47 (16,148)	79,14 (17,682)	77,18 (16,857)	1,048	0,352
Visuelles Gedächtnis	55,38 (8,547)	54,93 (9,062)	53,42 (9,256)	0,428	0,652
Allgemeines Gedächtnis	136,85 (21,477)	133,15 (25,845)	130,60 (24,416)	1,088	0,338
Aufmerksamkeit/Konzentration	68,51 (12,538)	68,94 (12,218)	65,91 (10,033)	0,077	0,926
Verzögertes Gedächtnis	90,69 (14,637)	88,58 (16,464)	88,82 (15,485)	1,135	0,323

df=2/316

Die Assoziation der Genotypverteilung mit den 5 Leistungsaspekten der WMS-R ergab weder signifikante Werte noch einen Trend.

3.1.2 Ergebnisse der Genotypen des NPY Polymorphismus rs16118 in den WMS-R Subtests

Tabelle 8 Resultate der WMS-R Untertests assoziiert mit den Genotypen des NPY-Polymorphismus rs16118

WMS-R Untertest	Genotyp			F	p
	C/C (n=129) MW (SD)	C/G (n=144) MW (SD)	G/G (n=57) MW (SD)		
1. Information und Orientierung	13,71 (0,536)	13,75 (0,573)	13,77 (0,567)	0,585	0,558
2. Mentale Kontrolle	5,21 (1,005)	5,29 (0,981)	5,18 (0,826)	0,529	0,590
3. Figurales Gedächtnis	7,36 (1,789)	7,48 (1,528)	7,00 (1,376)	0,754	0,471
4. Logisches Gedächtnis I	30,13 (7,473)	29,21 (7,959)	28,58 (7,597)	0,549	0,578
5. Visuelle Paarerkenung I	13,51 (4,300)	13,22 (4,198)	12,91 (4,646)	0,187	0,830
6. Verbale Paarerkenung I	21,03 (2,764)	20,72 (3,023)	20,02 (3,056)	2,032	0,133
7. Visuelle Wiedergabe I	34,62 (4,811)	34,24 (5,040)	33,51 (5,152)	0,664	0,515
8. Zahlenspanne	15,02 (3,575)	15,10 (3,599)	14,46 (3,556)	0,131	0,877
9. Blockspanne	16,64 (3,435)	16,72 (3,577)	15,91 (2,984)	0,362	0,697
10. Logisches Gedächtnis II	33,07 (8,747)	32,16 (9,002)	30,98 (7,650)	0,522	0,594
11. Visuelle Paarerkenung II	5,47 (1,097)	5,40 (1,247)	5,30 (1,349)	0,332	0,718
12. Verbale Paarerkenung II	7,59 (0,620)	7,46 (0,852)	7,47 (0,734)	1,507	0,223
13. Visuelle Wiedergabe II	31,50 (6,639)	30,71 (7,509)	30,28 (7,210)	1,074	0,343

df=2/316

Um Hinweise auf eine mögliche Assoziation zwischen den Genotypen des SNPs rs16118 mit der Gedächtnisleistung zu erhalten, wurden die Ergebnisse der Genotypen (C/C, C/G, G/G) in den 13 Untertests des WMS-R miteinander verglichen (s. Tab. 8).

Von den 13 Untertests des WMS-R zeigten keine signifikante Assoziationen oder Trends zu den Genotypen des rs16118.

3.2 Allel

Tabelle 9 Allelverteilung des NPY-Polymorphismus rs16118

Gruppe	Allel C n (%)	Allel G n (%)	Gesamt n
Kontrollen	272 (61,3)	172 (38,7)	444
Patienten	130 (60,2)	86 (39,8)	216
Gesamt	402 (60,9)	258 (39,1)	660

Die statistische Auswertung mittels der Varianzanalyse ergab die in Tabelle 9 veranschaulichte Allelverteilung innerhalb der Probanden. Das C-Allel war mit 61,3% bei den gesunden Kontrollprobanden und 60,2% bei den Patienten deutlich häufiger als das G-Allel vertreten. Es konnte keine signifikante Assoziation der Allelverteilung zwischen Patienten und Kontrollen nachgewiesen werden ($\chi^2 = 0,071$, $df = 1$, $p = 0,790$).

Weiterhin wurden die Träger des einen Allels und die homozygoten Träger des anderen Allels miteinander verglichen, um zu untersuchen, ob ein Allel häufiger in der Patientengruppe vorkommt.

3.2.1 C-Allelträger (CC+CG) gegenüber homozygoten G-Allelträgern (GG)

In Tabelle 10 wird die Verteilung der Träger des C-Allels (homozygot und heterozygot) in Vergleich zu den homozygoten G-Allelträgern dargestellt. Es konnte weder ein Trend noch eine signifikante Assoziation zwischen den Allelträgern und der Schizophrenie gezeigt werden ($\chi^2 = 0,011$, $df = 1$, $p = 0,915$).

Tabelle 10 Verteilung der C-Allel-Träger (CC+CG) im Vergleich zu den homozygoten G-Allel-Trägern (GG)

Gruppe	Allel C (CC+CG) n (%)	Homozygot Allel G (GG) n (%)	Gesamt n
Kontrollen	184 (82,8%)	38 (17,1%)	222
Patienten	89 (82,4%)	19 (17,6%)	108
Gesamt	273 (82,7%)	57 (17,3%)	330

3.2.2 G-Allelträger (GG+CG) gegenüber homozygoten C-Allelträgern (CC)

In Tabelle 11 wird die Verteilung der Träger des G-Allels (homozygot und heterozygot) verglichen zu den homozygoten C-Allelträgern dargestellt. Es konnte weder ein Trend noch eine signifikante Assoziation zwischen den Allelträgern und der Schizophrenie gezeigt werden ($\chi^2 = 0,086$, df = 1, p = 0,770).

Tabelle 11 Verteilung der C-Allel-Träger (CC+CG) im Vergleich zu den homozygoten G-Allel-Trägern (GG)

Gruppe	Allel G (GG+CG) n (%)	Homozygot Allel C (CC) n (%)	Gesamt n
Kontrollen	134 (60,4%)	88 (39,6%)	222
Patienten	67 (62,0%)	41 (38,0%)	108
Gesamt	201 (60,9%)	129 (39,1%)	330

3.2.3 Ergebnisse der Allele des NPY Polymorphismus rs16118 in den WMS-R Leistungsaspekten

Um Hinweise auf eine mögliche Assoziation zwischen den Allelen (C, G) des SNPs rs16118 mit der Gedächtnisleistung zu erhalten, wurde die Allelverteilung in Bezug auf die 5 WMS-R Leistungsaspekte untersucht (s. Tab. 12).

Tabelle 12 Resultate der Leistungsaspekte des WMS-R assoziiert mit den Allelen des NPY-Polymorphismus rs16118

WMS-R Leistungsaspekt	Allel		F	P
	C (n=402)	G (n=258)		
Verbales Gedächtnis	80,64 (16,710)	78,27 (17,284)	3,107	0,078
Visuelles Gedächtnis	55,22 (8,716)	54,26 (9,143)	0,983	0,322
Allgemeines Gedächtnis	135,52 (23,148)	132,02 (25,161)	2,978	0,085
Aufmerksamkeit	68,66 (12,395)	67,60 (11,366)	0,006	0,940
Verzögertes Gedächtnis	89,93 (15,312)	87,80 (16,003)	3,011	0,083

df=1/650

Die Assoziation der Allelverteilung mit den Leistungsaspekten Verbales Gedächtnis ($F=3,107$, $df=1/650$, $p=0,078$), Allgemeines Gedächtnis ($F=2,978$, $df=1/650$, $p=0,085$) und verzögertes Gedächtnis ($F=3,011$, $df=1/650$, $p=0,083$) zeigten einen Trend. In allen 3 Aspekten war das C-Allel mit besseren Leistungen assoziiert, das G-Allel war mit schlechteren Leistungen assoziiert (s. Abb. 13, 14 und 15).

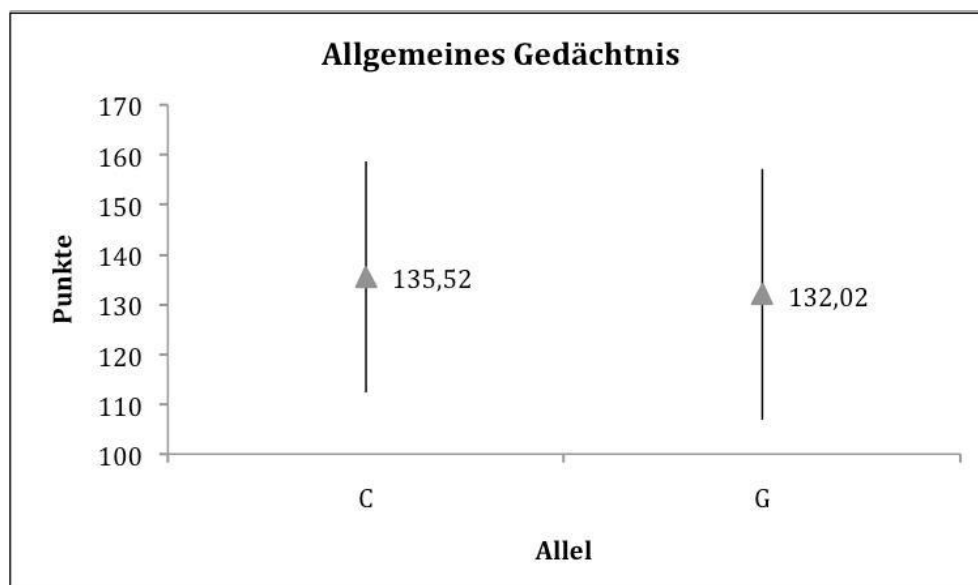


Abb. 13 WMS-R-Punktzahlen (Mittelwert \pm Standardabweichung) im Leistungsaspekt Allgemeines Gedächtnis im Verhältnis zu den Allelen des NPY-Gen Polymorphismus rs16118. Das C-Allel geht mit besseren Leistungen einher

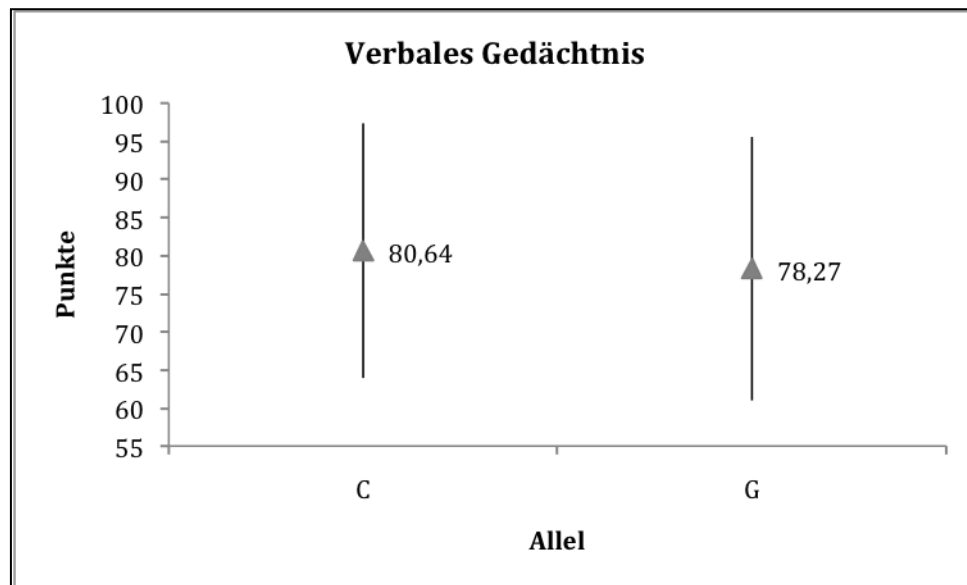


Abb. 14 WMS-R-Punktzahlen (Mittelwert \pm Standardabweichung) im Leistungsaspekt Verbales Gedächtnis assoziiert mit den Allelen des NPY-Gen Polymorphismus rs16118. Das C-Allel beinhaltet bessere Leistungen

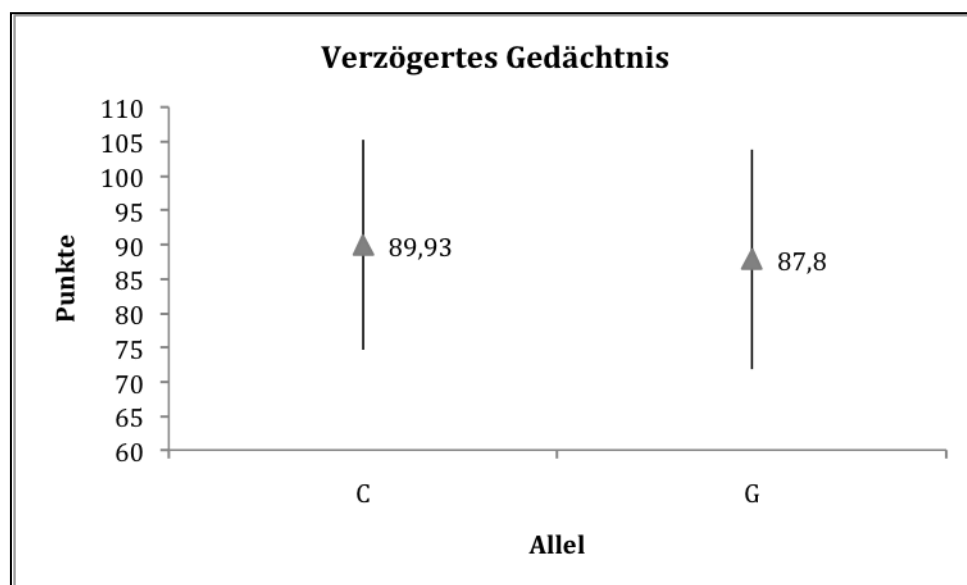


Abb. 15 WMS-R-Punktzahlen (Mittelwert \pm Standardabweichung) im Leistungsaspekt Verzögertes Gedächtnis im Vergleich mit den Allelen des NPY-Gen Polymorphismus rs16118. Das C-Allel ist mit besseren Leistungen gekoppelt

3.2.4 Ergebnisse der Allele des NPY Polymorphismus rs16118 in den WMS-R Subtests

Um Hinweise auf eine mögliche Assoziation zwischen den Allelen des SNPs rs16118 mit der Gedächtnisleistung zu erhalten, wurden die Ergebnisse der Allele (C, G) in den 13 Untertests des WMS-R miteinander verglichen (s. Tab. 13).

Tabelle 13 Resultate der WMS-R Untertests assoziiert mit den Genotypen des NPY Polymorphismus rs16118

WMS-R Untertest	Allel		F	p
	C (n=402) MW (SD)	G (n=258) MW (SD)		
1. Information und Orientierung	13,72 (0,549)	13,76 (0,569)	1,042	0,308
2. Mentale Kontrolle	5,24 (0,995)	5,24 (0,915)	0,363	0,547
3. Figurales Gedächtnis	7,40 (1,697)	7,27 (1,477)	0,020	0,887
4. Logisches Gedächtnis I	29,80 (7,645)	28,93 (7,778)	1,881	0,171
5. Visuelle Paarerkennung I	13,41 (4,255)	13,08 (4,386)	0,563	0,453
6. Verbale Paarerkennung I	20,92 (2,856)	20,41 (3,046)	4,246	0,040
7. Visuelle Wiedergabe I	34,48 (4,885)	33,91 (5,082)	1,398	0,238
8. Zahlenspanne	15,05 (3,561)	14,82 (3,559)	0,331	0,565
9. Blockspanne	16,66 (3,478)	16,36 (3,340)	0,351	0,554
10. Logisches Gedächtnis II	32,74 (8,828)	31,64 (8,422)	1,816	0,178
11. Visuelle Paarerkennung II	5,45 (1,151)	5,35 (1,289)	0,816	0,367
12. Verbale Paarerkennung II	7,54 (0,713)	7,47 (0,799)	1,606	0,206
13. Visuelle Wiedergabe II	31,22 (6,957)	30,52 (7,354)	1,720	0,190

df=1/650

3. Ergebnisse

Von den 13 Untertests der WMS-R zeigten 12 keine signifikanten Assoziationen zu den Allelen (C, G) und keinen Trend. Lediglich im Untertest Verbale Paarererkennung I ($F=4,246$, $df=1/650$, $p=0,040$) konnte eine Signifikanz nachgewiesen werden. Probanden mit dem C-Allel zeigten hier eine bessere, Probanden mit dem G-Allel eine schlechtere Leistung (s. Abb. 16).

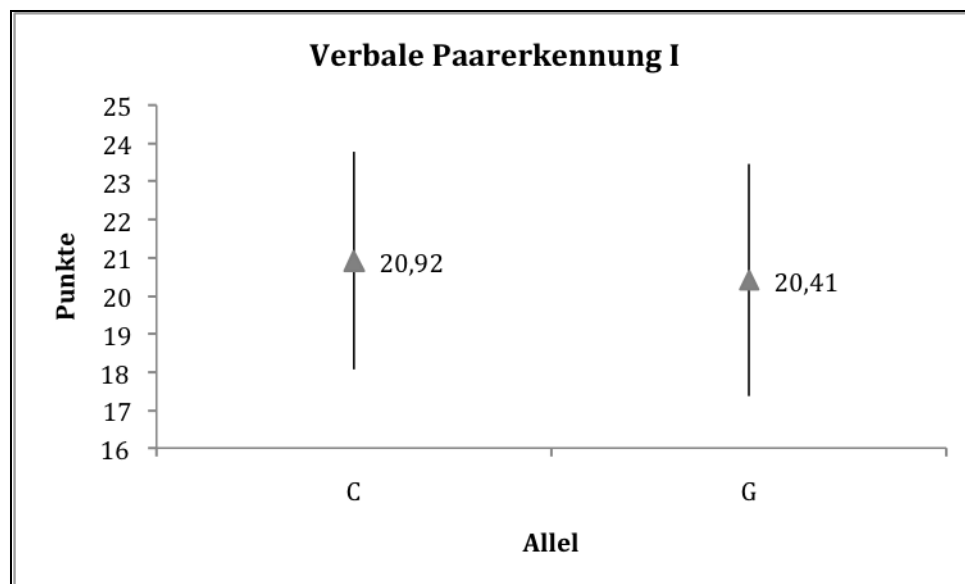


Abb. 16 WMS-R-Punktzahlen (Mittelwert \pm Standardabweichung) im Untertest Verbale Paarererkennung I assoziiert mit den Allelen des NPY-Gen Polymorphismus rs 16118. Das C-Allel ist geht mit besseren Leistungen einher.

4. Diskussion

In dieser Studie wurde die Assoziation zwischen dem Einzelbasenpolymorphismus (*Single Nucleotide Polymorphism*, SNP) rs16118 des NPY-Gens und der Gedächtnisleistung in Zusammenhang mit der Schizophrenie untersucht. Es wurden insgesamt 222 gesunde Probanden deutscher Abstammung in das Kontrollkollektiv und 108 an Schizophrenie erkrankte Patienten in das Patientenkollektiv eingeschlossen. Zur Erfassung der Gedächtnisleistung wurde die revidierte Fassung der Wechsler Memory Scale (WMS-R) eingesetzt. Die einzelnen Ergebnisse in den WMS-R Leistungsaspekten und den WMS-R Subtests der Genotypen und Allele des Polymorphismus wurden miteinander verglichen. Die Schizophrenieerkrankung war hierbei ein Cofaktor in der statistischen Auswertung. Es waren in einzelnen Leistungsaspekten und Subtests signifikante Unterschiede zu erheben. Hinsichtlich der Allelverteilung wurde bei den Leistungsaspekten Verbales Gedächtnis, Allgemeines Gedächtnis und Verzögertes Gedächtnis ein Trend gezeigt. In allen 3 Aspekten war das C-Allel mit besseren Ergebnissen assoziiert. Im Untertest Verbale Paarererkennung I erzielten Probanden mit dem C-Allel signifikant bessere Leistungen. Eine Assoziation des rs16118 Polymorphismus mit einzelnen Aspekten der Gedächtnisleistung kann somit vermutet werden. Es wurde kein signifikanter Unterschied hinsichtlich der Genotyp- und Allelverteilung zwischen Schizophrenen und gesunden Kontrollprobanden nachgewiesen. Somit ist anzunehmen, dass der SNP rs16118 nicht primär mit der Schizophrenieerkrankung assoziiert ist.

Der Polymorphismus rs16118 befindet sich zwischen zwei Genen, am nächsten liegt er 5336 bp zu dem 3'-Ende von dem NPY-Gen auf Chromosom 7 entfernt. Er hat einen Austausch der Base Guanin (G) durch Cytosin (C) zur Folge. Er stellt keinen funktionellen Polymorphismus dar, da es nicht zu einem Aminosäureaustausch kommt und er somit wahrscheinlich keinen physiologischen Effekt auf zellulärer Ebene hat (NCBI, 2011b). Möglich wäre, dass dieser SNP regulatorische Sequenzen manipuliert oder über andere Mechanismen auf die NPY-Proteinexpression Einfluss hat. Es ist weitestgehend unklar, inwiefern er einen weitergehenden Einfluss auf kognitive Funktionen haben könnte. Obwohl das humane Genom entschlüsselt wurde,

sind die zugrunde liegenden Mechanismen der Genexpression nur zum Teil bekannt. Daher ist es wichtig, auch solche Regionen zu untersuchen, die außerhalb des kodierenden Bereichs eines Gens liegen, um genaue Interaktionen beleuchten zu können (Asthana et al., 2007).

4.1 Diskussion der Methoden

Stichprobengröße

Im Rahmen dieser Studie wurde eine Stichprobengröße aus insgesamt 330 Studienteilnehmern gewählt, die relativ klein ist. Die Gruppe der gesunden Kontrollprobanden war mit 222 Teilnehmern größer (67,3%) als die aus 108 Teilnehmern bestehende Gruppe der Schizophreniepatienten (32,7%). Die Gruppengröße in dieser Studie ist zwar vergleichbar mit ähnlichen genetischen Studien, welche andere SNPs untersuchten (Itokawa et al., 2003; Duan et al., 2005; Wang et al., 2005; Lindberg et al., 2006; Inoue et al., 2009), das Verhältnis zwischen Patienten und Kontrollen ist jedoch nicht ganz ausgeglichen. Die Ergebnisse dieser Studie können aufgrund der geringen Stichprobengröße nur als Hinweis gelten. Ob die gezeigte Assoziation signifikant ist oder nicht, kann die Studie aufgrund der kleinen Stichprobe nicht genau bestätigen. Wichtig wäre es, die Ergebnisse in einer größeren Stichprobe zu replizieren, um die Validität der Ergebnisse zu erhöhen.

Ethnische Abstammung

Da Allel- und Genotypfrequenzen in unterschiedlichen Populationen stark variieren können, sollte die ethnische Herkunft bei genetischen Untersuchungen mitberücksichtigt werden.

Alle Teilnehmer dieser Studie waren Personen deutscher Abstammung aus der allgemeinen Bevölkerung Münchens. Die Eltern und Großeltern mussten ebenfalls aus Deutschland stammen. Es ist nicht sicher, inwieweit sich die genetischen Varianten in verschiedenen Populationen vergleichen lassen.

Tabelle 14 Genotyp- bzw. Allelverteilung in verschiedenen Populationen (aus NCBI, 2011b)

Population	Genotyp- bzw. Allelverteilung %				
	Genotyp			Allel	
	CC	CG	GG	C	G
Europäer	8.3-19.0	50.0-54.2	31.0-37.5	35.4-44.0	56.0-64.6
Afroamerikaner	17.4	60.9	21.7	47.8	52.2
Asiaten	8.3-11.4	29.2-46.5	43.2-62.5	22.9-34.1	65.9-77.1
Subsaharische Afrikaner	16.7	46.7	36.7	40.0	60.0

Die Allel- und Genotypverteilung des in dieser Studie untersuchten Polymorphismus rs16118 unterscheidet sich in den verschiedenen Populationen (s. Tab. 14). Grundsätzlich wird von einer hohen Heritabilität der kognitiven Leistungen (Ando et al., 2001; Plomin et al., 2001) ausgegangen. Die Erbllichkeit kann aber nicht die alleinige Erklärung für die unterschiedlichen Assoziationen zu Gedächtnisleistungen zwischen ethnischen Gruppen sein, da auch Umweltfaktoren eine Rolle spielen können (Plomin & Craig, 1997; Haworth & Plomin, 2010). Ebenso hat die Schizophrenie eine hohe Heritabilität als Ursache (Cardno et al., 1999; Tsuang et al., 2001; Cloninger, 2002; Sullivan et al., 2003), genauso wie Umweltfaktoren einen Einfluss haben (Brown, 2011). Daher wäre es wichtig, diese Studie mit zukünftigen ähnlichen Studien an anderen Populationen zu vergleichen, um allgemeingültige Aussagen treffen zu können.

Diagnoseverfahren und Einschlusskriterien

Die Studienergebnisse können durch unterschiedliche Diagnoseverfahren und Einschlusskriterien beeinflusst werden. Alle gesunden Kontrollprobanden wurden deshalb in einem mehrstufigen Verfahren rekrutiert, um Probanden auszuschließen, die neuropsychiatrische Erkrankungen haben oder solche mit Verwandten, die an neuropsychiatrischen Erkrankungen leiden.

Für die Auswahl der Probanden innerhalb der Patientengruppe bestanden ebenso gleiche Bedingungen. Alle Patienten erfüllten die DMS-IV-Kriterien für Schizophrenie und wiesen keine weiteren neuropsychiatrischen Erkrankungen in ihrer Anamnese auf. Allerdings wiesen die Patienten naturgemäß Unterschiede hinsichtlich der Erkrankungsdauer und -schwere sowie der Medikation auf.

Es wurde versucht, eine möglichst genaue Übereinstimmung der Kontroll- und Patientengruppe zu erzielen. Beide Untersuchungsgruppen unterschieden sich hinsichtlich der Parameter Alter und Geschlecht. Die gesunden Kontrollprobanden waren mit im Durchschnitt 47,64 Jahren älter als die durchschnittlich 39,12 Jahre alten schizophrenen Patienten. Außerdem war das Verhältnis von männlichen zu weiblichen Probanden bei den Kontrollprobanden mit 45,9% zu 54,1% und bei den Patienten mit 61,1% zu 38,9% nicht exakt ausgewogen. Aus diesem Grund wurden die Faktoren Alter und Geschlecht als Kovariablen in die statistische Auswertung miteinbezogen.

Den eventuellen Einfluss verschiedener Psychopharmaka auf die Gedächtnisleistung zu berechnen ist schwierig, da die Einnahme eng mit der Symptomstärke zusammenhängt. Die Symptomstärke korreliert allerdings auch mit der applizierten Psychopharmakamenge (Wittorf et al., 2008). Dies sind zwei potentielle Faktoren, welche die Gedächtnisleistung beeinträchtigen können und somit die Aussagekraft in den Ergebnissen beeinflussen könnten. Die in dieser Studie ausgewählten Schizophreniepatienten waren nicht in einer akuten Erkrankungsphase, das könnte dies zumindest teilweise relativieren.

Gedächtnisdiagnostik

Nach dem klinischen Interview wurde ein standardisierter klinischer Test, die deutsche Adaptation der revidierten Fassung der Wechsler Memory Scale (WMS-R), zur Ermittlung der Gedächtnisleistung angewandt (Härting et al., 2000). Die Rohwerte in den einzelnen Untertests und den fünf Leistungsaspekten wurden statistisch analysiert.

Die Durchführungsobjektivität war gewährleistet durch das strenge Vorgehen nach der Handbucharweisung der WMS-R. Die Versuchsleiter wurden sorgfältig trainiert und überprüften sich gegenseitig. Die Versuchsauswertung wurde ebenfalls

gegenseitig überprüft. Eine Freigabe zur Untersuchung von Probanden erfolgte erst nach einer Prüfung durch die Studienleitung. Es wurde versucht, die Rahmenbedingungen der Gedächtnistestung möglichst identisch zu halten. Die Tests erfolgten am gleichen Ort und zu gleichen Tageszeiten. Außerdem fand besondere Beachtung, dass die Versuchsleiter die Tests möglichst gleich ausführten. Ein gewisser Ermessungsspielraum durch die einzelnen Versuchsleiter ist allerdings nicht vermeidbar, wurde aber so gering wie möglich gehalten.

Die vorliegende Studie erbrachte signifikante Ergebnisse im Bereich des verbalen Kurzzeitgedächtnisses. Andere mögliche Tests zur Untersuchung des verbalen Gedächtnisses wären z.B. der Verbale Lern- und Merkfähigkeitstest (VLMT) (Helmstaedter et al., 2001) oder der California Verbal Learning Test (CVLT) (Niemann et al.). Bei beiden Tests wird das Lernvermögen geprüft, indem Wortlisten vorgelesen werden, die dann gemerkt und wiedergegeben werden müssen. Der VLMT besteht aus 2 Wortlisten mit jeweils 15 unterschiedlichen Wörtern und einer Wiedererkennensliste, die die 30 Wörter der ersten beiden Listen sowie 20 ähnliche Distraktionswörter beinhaltet. Der CVLT besteht aus 2 Listen mit jeweils 16 Wörtern, einer Lernliste und einer Interferenzliste. Die Reliabilität des VLMT liegt zwischen 0,68-0,87, die des CVLT bei 0,73-0,92 und die der WMS-R bei 0,4-0,9. Die Ergebnisse des VLMT wären demnach vergleichbar mit denen der WMS-R. Ebenso kann das verbale Gedächtnis mit dem Verbalen Lerntest (VLT) (Sturm & Willmes, 1999) gemessen werden, dies ist auch ein Verfahren zur Messung verbaler Lernleistungen nach der Wiedererkennungsmethode. Der Proband muss auf Kärtchen gezeigte sinnfreie Worte wieder erkennen. Dieser Test ist mit einer Reliabilität von 0,71-0,91 ebenso vergleichbar mit der WMS-R.

4.2 Diskussion der Ergebnisse

In dieser Arbeit wurde untersucht, ob der Polymorphismus rs16118 des NPY-Gens mit der Gedächtnisleistung bei Schizophrenen und gesunden Probanden, gemessen anhand der WMS-R, assoziiert ist. Außerdem wurde untersucht, ob die Genotyp- und Allelverteilung des rs16118 mit der Schizophrenie assoziiert ist.

Hinsichtlich der Genotyp- und Allelverteilung konnte kein signifikanter Unterschied zwischen Schizophrenie und Kontrollen nachgewiesen werden.

Tabelle 15 Einteilung der Gedächtnisanteile der WMS-R-Untertests

		Untertest	
Allgemeines Verbales Gedächtnis		Logisches Gedächtnis II	Verbaler Anteil des Langzeitgedächtnisses
		Verbale Paarerkennung II	
		Logisches Gedächtnis I	Verbaler Anteil des Kurzzeitgedächtnisses
		Verbale Paarerkennung I	
	Arbeitsgedächtnis	Zahlenspanne	
Allgemeines Visuelles Gedächtnis	Arbeitsgedächtnis	Blockspanne	Visueller Teil des Kurzzeitgedächtnisses
		Figurales Gedächtnis	
		Visuelle Paarerkennung I	
		Visuelle Wiedergabe I	
		Visuelle Paarerkennung II	Visueller Teil des Langzeitgedächtnisses
		Visuelle Wiedergabe II	

Es wurden der sofortige und der um 30 Minuten verzögerte Abruf des allgemeinen verbalen Gedächtnisses mit den WMS-R-Subtests Zahlenspanne vorwärts und rückwärts, Logisches Gedächtnis I und II sowie Verbale Paarerkennung I und II untersucht. Hiermit kann der phonologische Anteil des Kurzzeitgedächtnisses, gemessen mit Zahlenspanne, Logisches Gedächtnis I und Verbale Paarerkennung I sowie das deklarative episodische Langzeitgedächtnis, gemessen mit Logisches Gedächtnis II und Verbale Paarerkennung II, ermittelt werden. Weiterhin erfolgte die Untersuchung der verbal-auditiven Modalität des Arbeitsgedächtnisses. Der sofortige und der um 30 Minuten verzögerte Abruf des allgemeinen visuellen Gedächtnisses fand mit den Subtests Figurales Gedächtnis, Blockspanne vorwärts und rückwärts,

Visuelle Paarerkenkung I und II und Visuelle Wiedergabe I und II statt. Hierbei wird der Anteil des visuell-räumlichen Kurzzeitgedächtnisses mit den Untertests Figurales Gedächtnis, Blockspanne, Visuelle Paarerkenkung I und Visuelle Wiedergabe I, das Langzeitgedächtnis mit Visuelle Paarerkenkung II und Visuelle Wiedergabe II gemessen. Ebenfalls wird die viso-spatiale Modalität des Arbeitsgedächtnisses untersucht (Calabrese, 1997) (s. Tab. 15, S. 80).

Probanden, die im Polymorphismus rs16118 das C-Allel aufwiesen, erzielten bessere Ergebnisse in der Gedächtnisleistung, v.a. in dem Untertest Verbale Paarerkenkung I. Hier sind das C-Allel sowie der C/C-Phänotyp mit besseren Leistungen im WMS-R-Test assoziiert. In weiteren Assoziationsstudien müsste untersucht werden, ob diese Ergebnisse reproduzierbar sind.

Einige Studien lieferten einen Hinweis darauf, dass das NPY-Gen ein Suszeptibilitäts-gen für Schizophrenie ist. Der -485T>C –Polymorphismus (rs16147) in der Promotorregion des NPY-Gens zeigte signifikante Unterschiede sowohl für die Allel- als auch die Genotypverteilung zwischen Schizophreniepatienten und gesunden Kontrollprobanden einer japanischen Bevölkerungsgruppe. Das -485T-Allel war in der Patientengruppe signifikant häufiger vorhanden. Die Forscher schließen darauf, dass das Allel zur Erkrankungsentstehung beiträgt, indem es die NPY-Expression im Gehirn vermindert (Itokawa et al., 2003). Neuere Studien konnten dies jedoch nicht bestätigen (Duan et al., 2005; Wang et al., 2005; Lindberg et al., 2006; Inoue et al., 2009). Die Gruppe um Itokawa untersuchte 212 Patienten und 199 Kontrollprobanden aus der japanischen Bevölkerung. Die Untersuchungsgruppe von Inoue et al. umfasste 260 Patienten und 196 Kontrollen ebenfalls japanischer Herkunft. Die Größen der beiden Gruppen sind vergleichbar, ebenso die Herkunft, was die unterschiedlichen Ergebnisse nicht erklären kann. Die Gruppen um Duan und Wang untersuchten den -485T>C Polymorphismus an chinesischen Probanden und kamen zu ähnlichen Ergebnissen wie die Gruppe um Inoue. Lindberg et al. untersuchten 291 Patienten und 265 Kontrollen aus der dänischen Population und konnten ebenfalls keine Assoziation nachweisen.

Zurzeit ist keine Studie bekannt, die den in der vorliegenden Studie untersuchten Polymorphismus rs16118 miteinbezogen hat. Der weiter oben aufgeführte SNP rs16147 befand sich 5' zu dem NPY-Gen, in der Promotorregion, und somit 65297 bp von dem rs16118 entfernt (NCBI, 2011b).

Die Studien von Itokawa et al. und Inoue et al. (Itokawa et al., 2003; Inoue et al., 2009) wurden an japanischen Populationsgruppen durchgeführt, die von Duan et al. und Wang et al. (Duan et al., 2005; Wang et al., 2005) an chinesischen, und die Studie von Lindberg et al. wurde an einer dänischen Population durchgeführt (Lindberg et al., 2006). Grundsätzlich gibt es Verschiebungen in der Häufigkeit im genetischen Pool Europas und Asiens. Es wäre wünschenswert, die genetischen Marker an einer europäischen Populationsgruppe zu untersuchen, um sie mit der dänischen Population in der Studie von Lindberg et al. vergleichen zu können.

Eine Möglichkeit, die unterschiedlichen Ergebnisse der Studien von Inoue et al. und Itokawa et al. zu erklären wäre, dass sich der -485C>T Polymorphismus mit einem anderen Polymorphismus im Kopplungsungleichgewicht befindet, der einen tatsächlichen Effekt auf die Genexpression hat. Der Grad des Kopplungsungleichgewichts ist möglicherweise von der Populationsstichprobe abhängig. Ebenso ist es möglich, dass der untersuchte Polymorphismus ein sehr unbedeutender Suszeptibilitätsfaktor für Schizophrenie ist und daher die statistische Stärke der Studien für die Aufdeckung der Effekte zu schwach ist (Inoue et al., 2009). Möglich wäre auch eine Heterogenität zwischen bzw. innerhalb der Stichproben, so dass die Assoziation mit einem bestimmten Allel oder Unterschiede in der Allelverteilung auf spezifische Patientenuntergruppen limitiert sind (Duan et al., 2005).

Zusammenfassend können die Ergebnisse der verschiedenen Studien so interpretiert werden, dass eine mögliche Assoziation zwischen dem Gen und der Schizophrenieerkrankung besteht und dass das NPY-Gen ein mögliches Kandidatengen für Schizophrenie ist. Es wurden bis heute jedoch nicht genügend Studien mit unterschiedlichen Markern durchgeführt, um dies definitiv belegen zu können.

Mehrere Studien haben gezeigt, dass die NPY-Konzentration im Gehirn schizophrener Patienten verändert ist. Die Gruppe um Frederiksen untersuchte postmortem die NPY-Konzentrationen im Gehirn von Neuroleptika-behandelten und -unbehandelten schizophrenen Patienten sowie von gesunden Kontrollprobanden. Die NPY-Konzentration war im temporalen Kortex der Patienten signifikant reduziert, jedoch nicht im Hypothalamus. Es gab keine Unterschiede hinsichtlich der medikamentös behandelten und unbehandelten Patienten (Frederiksen et al., 1991). Eine andere Studie zeigte dagegen eine Abnahme der NPY-Genexpression im frontalen Kortex von Schizophreniepatienten, jedoch nicht im temporalen Kortex (Kuromitsu et al., 2001).

Ikeda et al. untersuchten die Verteilung NPY-positiver Neurone und Fasern im präfrontalen Kortex schizophrener und gesunder Probanden. Sie konnten beobachten, dass die NPY-haltigen Neurone bei Schizophreniepatienten in tiefen Lagen der weißen Substanz reichlich verteilt sind, während die Verteilung in den oberen Kortikalschichten spärlicher ist (Ikeda et al., 2004). Iritani et al. zeigten dass NPY-positive Fasern im Hippocampus von Schizophrenen morphologisch verändert sind (Iritani et al., 2000).

Eine weitere Studie untersuchte die NPY-ähnliche Immunreaktion im Liquor cerebrospinalis von medikamentenfreien Schizophreniepatienten und gesunden Kontrollprobanden. Die Patienten hatten höhere Werte als die Kontrollprobanden. Die NPY-ähnliche Immunreaktion wurde mit dem Alter und dem Verlauf der Erkrankung reduziert. Es fanden sich strukturelle Gehirnabnormalitäten im CT und eine Assoziation dieser zu niedriger NPY-ähnlicher Immunreaktion im Liquor. Die Gruppe untersuchte weiterhin die unterschiedliche NPY-ähnliche Aktivität im Liquor bei Patienten vor und nach dem Absetzen einer Behandlung mit Haloperidol. Nach dem Absetzen des Medikaments war die Immunreaktion erhöht (Peters et al., 1990). Zwei frühere Studien konnten dies jedoch nicht nachweisen (Berrettini et al., 1987; Widerlov et al., 1988).

Zusammenfassend lassen sich die Ergebnisse der Referenzstudien so erklären, dass das NPY einen Einfluss auf die Schizophrenie zu haben scheint. Die Gruppen von Ikeda und Iritani schließen anhand ihrer Ergebnisse auf eine Dysfunktion der Interneurone im Gehirn von Schizophreniepatienten. Da bei der Krankheit keine

Hinweise auf neurodegenerative Prozesse zu finden sind, erklären sie ihre Ergebnisse durch eine Entwicklungsstörung des ZNS, was auch eine mögliche Erklärung für die verschiedenen Symptome sei, wie z.B. Gedächtnis- und Lerndefizite (Iritani et al., 2000; Ikeda et al., 2004). Die veränderte NPY-Genexpression im Gehirn schizophrener Patienten in der Studie von Kuromitsu et al. macht deutlich, dass sich die mRNA-Level in einigen Gehirnregionen reduziert haben (Kuromitsu et al., 2001).

Es gibt demnach Evidenz auf mehreren Ebenen, dass die Schizophrenieerkrankung mit veränderter NPY-Konzentration in verschiedenen Gehirnarealen zusammenhängen könnte.

In der vorliegenden Studie konnte jedoch keine Assoziation des SNPs rs16118 des NPY-Gens und der Schizophrenie nachgewiesen werden. Die Ergebnisse dieser Studie sind nicht direkt mit den Referenzstudien vergleichbar, da es unbekannt ist, welchen Einfluss der SNP rs16118 auf das NPY-Gen hat, da er außerhalb des kodierenden Bereichs des Gens liegt. In Anbetracht der Tatsache, dass die NPY-Konzentrationen von Schizophreniepatienten verändert zu sein scheinen und zusammen mit der Tatsache betrachtet, dass kein Unterschied hinsichtlich der Patienten und Kontrollen in dieser Studie nachgewiesen werden konnte, kann vermutet werden, dass der untersuchte Polymorphismus keinen Einfluss auf die Genexpression hat. Weitere Untersuchungen mit unterschiedlichen SNPs sind auf diesem Gebiet nötig, um sichere Aussagen treffen zu können.

Bisher sind einige Studien zur Neurotransmission in der Literatur zu finden, die sich mit dem Zusammenhang des NPY-Gens und mit Gedächtnisleistungen auseinandersetzen. Die meisten vorangegangenen Studien waren tierexperimentell. Intrazerebroventrikuläre NPY-Injektionen bei Mäusen führten zu einer Gedächtnisverbesserung. Auch hob das injizierte NPY die durch Scopolamin und Anisomycin hervorgerufene Amnesie auf (Flood et al., 1987). Der beschriebene Effekt war jedoch nur messbar, wenn das NPY direkt nach dem Training, 1 Woche vor der Untersuchung, verabreicht wurde. Eine andere Studie zeigte demgegenüber, dass die NPY-Injektion anfänglich zu einem Gedächtnisdefizit führte, die Tiere konnten dies jedoch in den darauf folgenden Tagen wieder aufholen (Sorensen et al.,

2008). Flood et al. konnten zeigen, dass das in das Septum und den rostralen Bereich des Hippocampus injizierte NPY das Gedächtnis verbesserte, im kaudalen Hippocampus und Amygdala verschlechterte sich das Gedächtnis. Eine passive Immunisierung mit NPY-Antikörpern im kaudalen Hippocampus und Amygdala verbesserte die Gedächtnisleistung (Flood et al., 1989). Zudem beeinflusst das NPY die synaptische Plastizität. Es reduziert die Langzeit-Potenzierung der Synapsen im Hippocampus und inhibiert somit die synaptische Transmission. Impulse werden nicht regulär weitergeleitet, was die Gedächtnisverarbeitung herabsetzt (Sorensen et al., 2008). In der tierexperimentellen Studie von Lendri et al. wurde gezeigt, dass das NPY inhibitorische und exzitatorische Inputs auf Interneurone im Hippocampus beeinflusst. Dies geschieht durch die Aktivierung von NPY Y_2 -Rezeptoren. Sie schlagen vor, dass das NPY zu einer verminderten rezeptorischen Transmission führt, indem es die präsynaptische Glutamatfreisetzung an den Interneuronen herabsetzt (Ledri et al., 2011). Diese Interneurone, die sog. CCK-Korbzellen wurden in Zusammenhang mit der Gedächtniskonsolidierung beschrieben (Freund, 2003).

Thorsell et al. arbeiteten mit transgenen Ratten, die eine NPY-Überexpression im Hippocampus hatten. Sie wiesen im Vergleich zu den Kontrolltieren ein Gedächtnisdefizit auf (Thorsell et al., 2000). Carvajal et al. zeigten im Gegensatz dazu, dass die Ratten ihr Gedächtnisdefizit wieder aufholten, wenn sie älter wurden (Carvajal et al., 2004). Der Grund für die Diskrepanzen zwischen den verschiedenen Studien ist unklar, Sorensen et al. schlagen vor, dass v.a. der Zeitpunkt der NPY-Bioverfügbarkeit wichtiger ist als das Vorhandensein des NPY. Der Effekt des NPY auf das Gedächtnis scheint in der Anfangsphase eines Lernprozesses ausgeprägter zu sein (Sorensen et al., 2008).

Diese Studien geben aber Hinweise auf funktionelle Mechanismen. Sie zeigen eine Assoziation zwischen dem Neuropeptid Y und dem Gedächtnis, was die Hypothese bestätigt, dass das NPY Gedächtnis- und Lernprozesse modulieren kann.

Ein Problem für den Vergleich mit der in dieser Studie durchgeführten Assoziationsstudie stellt die Tatsache dar, dass bei allen Tierversuchen das wesentliche Augenmerk auf räumlichen Lern- und Gedächtnisprozessen lag, da andere kognitive Prozesse nur schwer bis gar nicht untersuchbar sind. Diese werden

mittels der WMS-R allerdings nicht abgedeckt, so dass sich Gemeinsamkeiten mit den tierexperimentellen Studien nur schwer darstellen lassen.

Es wird grundsätzlich in den verschiedenen bisher publizierten Arbeiten angenommen, dass das NPY Einfluss auf verschiedene Gedächtnisfunktionen hat. Eine Interpretationsmöglichkeit der Referenzstudien bezieht sich auf die Menge der Peptidausschüttung, da eine NPY-Überexpression im Hippocampus mit einem Gedächtnisdefizit assoziiert ist (Thorsell et al., 2000). Wichtiger scheint aber v.a. der Zeitpunkt der Peptidausschüttung im Hippocampus zu sein, da der Effekt in der Anfangsphase der Lernprozesse ausgeprägter ist (Sorensen et al., 2008). Zusammengefasst können die Studienergebnisse so interpretiert werden, dass eine erhöhte NPY-Aktivität während der Anfangsphasen der Gedächtnisprozesse mit verschlechterten Lern- und Gedächtnisprozessen einhergeht.

Eine erhöhte Peptidaktivität kann zum einen eine erhöhte Genexpression als Ursache haben. Möglich wäre aber auch, dass eine erhöhte Dichte des dazugehörigen Rezeptors vorliegt. Da sich die vorliegende Studie mit dem NPY-Gen befasst und Probanden mit dem C-Allel des Polymorphismus rs16118 bessere Gedächtnisleistungen aufwiesen, liegt die Interpretation nahe, dass sich die Genexpression und daher auch die NPY-Aktivität verringert haben könnte. Unklar ist jedoch, ob der untersuchte Polymorphismus tatsächlich eine verringerte Genexpression zur Folge hat, oder ob ein Kopplungsungleichgewicht zu einem anderen Polymorphismus besteht, oder ob weitere unbekannte Faktoren für die Ergebnisse verantwortlich sind.

In dieser Arbeit zeigten Träger des C-Allels signifikant bessere Ergebnisse als Träger des G-Allels, v.a. im Bereich des verbalen Gedächtnisses, speziell im Untertest Verbale Paarererkennung I. Mit diesem Untertest wird das allgemeine verbale Gedächtnis und speziell der phonologische Anteil des Kurzzeitgedächtnisses untersucht. Dies deutet darauf hin, dass das NPY auf genetischer Ebene einen Einfluss auf das verbale Gedächtnis haben könnte. Ferner ergibt sich die Hypothese, dass die Nukleotidsubstitution C/G in dem SNP rs16118 mit Gedächtnisprozessen im Bereich des verbalen Gedächtnisses assoziiert sein könnte. Es kann mit den Ergebnissen dieser Studie nicht abschließend beantwortet werden, inwieweit sich

dieser Polymorphismus auf die Genexpression und die Neuropeptidausschüttung oder -aktivität auswirkt.

Die tierexperimentellen Studien beziehen sich hauptsächlich auf Aufgaben räumlicher Anordnungen, in denen räumliche Lern- und Gedächtnisprozesse untersucht werden. Das verbale Kurzzeitgedächtnis beim Menschen, in welchem in der vorliegenden Studie die signifikanten Unterschiede nachgewiesen werden konnten, kann bei Tieren schlecht untersucht werden. Um die Studien miteinander vergleichen zu können, könnte bei Menschen auch das räumliche Gedächtnis untersucht werden. Es ist wichtig, weitere humane Studien auf dem Gebiet des verbalen Kurzzeitgedächtnisses durchzuführen, um einen möglichen Einfluss des SNPs rs16118 auf eine veränderte Expression des NPY sowie den Zusammenhang zwischen Expression und Gedächtnis zu eruieren.

In der vorliegenden Studie mit dem NPY-Gen erzielten Probanden mit dem C-Allel bessere Ergebnisse in dem Gedächtnistest. Ob diesem Ergebnis eine verringerte Genexpression und daher auch die NPY-Aktivität bei Probanden mit dem C-Allel zugrunde liegen könnte, lässt sich momentan nicht beantworten. Es sind daher weitere Untersuchungen auf diesem Gebiet nötig, um diese Ergebnisse und Hypothesen zu verifizieren.

Es bleibt des Weiteren unsicher, ob der untersuchte Polymorphismus rs16118 für die Ergebnisse dieser Studie ursächlich ist, oder ob er sich evtl. mit einem anderen Polymorphismus, der einen Einfluss auf die Genexpression hat, in einem Kopplungsungleichgewicht befindet. Auch dies müsste in weiteren Studien geklärt werden. Generell ist es schwer, mit nur einem SNP, der außerhalb des kodierenden Bereichs des Gens liegt, sichere Aussagen treffen zu können. Es wäre wichtig, dass zukünftig auch möglich funktionelle SNPs untersucht werden.

Es ist gezeigt worden, dass einige der Effekte des NPY durch Aktivierung von Dopaminrezeptoren vermittelt werden (Heilig, 1993; Obuchowicz et al., 2004). Dabei wird von einer reziproken Interaktion zwischen dem NPY-System und Dopamin ausgegangen, einem der wichtigsten Neurotransmitter für den Wirkungsmechanismus von Antipsychotika (Obuchowicz et al., 2004). In dem Review-Artikel von Obuchowicz wird vorgeschlagen, dass Antipsychotika eine Aktivitätsverringering der

NPY-Interneurone bewirken können. Da die verschiedenen Antipsychotika ähnliche Effekte bei Ratten hervorrufen, ist es möglich, dass der Effekt zur therapeutischen Wirkung von Antipsychotika beiträgt (Obuchowicz et al., 2004). Es wird weiterhin die Hypothese aufgestellt, dass die Änderungen, welche nach der Gabe von Antipsychotika beobachtet werden, möglicherweise eine Konsequenz der erhöhten NPY-Synthese sind. Es wird davon ausgegangen, dass die Veränderungen des NPY-Systems von funktioneller Relevanz sind, da eine Interaktion mit dem Dopaminsystem besteht. Somit kann hypothetisiert werden, dass die Veränderungen im NPY-System zu den therapeutischen Wirkungen sowie den Nebenwirkungen von Antipsychotika beitragen könnten (Obuchowicz et al., 2004). Die Gedächtnisleistung, v.a. das Arbeitsgedächtnis, ist in tierexperimentellen Studien in Zusammenhang mit veränderten Dopaminkonzentrationen beschrieben worden (Arnsten & Robbins, 2002). Die mögliche Rolle des NPY in der Pathogenese der Schizophrenie sowie die Mitwirkung des NPY-Systems bei den Effekten von Psychopharmaka und nicht-medikamentösen Behandlungen von psychischen Erkrankungen weisen darauf hin, dass Medikamente, die das NPY-System direkt beeinflussen, ein interessanter Ansatz für die Behandlung dieser Erkrankungen sind (Obuchowicz et al., 2004). Es ist daher für zukünftige Untersuchungen wichtig, die Effekte von Psychopharmaka auf das NPY-System in Tiermodellen und, soweit möglich und ethisch vertretbar, am Menschen zu untersuchen, um die Rolle des NPY in dem Wirkungsmechanismus der Psychopharmaka und die Pathogenese psychischer Erkrankungen besser verstehen, bzw. behandeln zu können. Des Weiteren sollte die Wirkung der Dopaminkonzentration auf das Gedächtnis in Zusammenhang mit der Wirkung von Psychopharmaka weiter untersucht werden, um einen möglichen Zusammenhang herstellen zu können und die Symptome behandeln zu können.

4.3 Ausblick auf zukünftige Untersuchungen

Es ist von großer Bedeutung, Gene zu identifizieren, die für die verschiedenen Gedächtnisleistungen und -einschränkungen bei unterschiedlichen Erkrankungen verantwortlich sind. Ebenso wichtig sind die zugrunde liegenden Mechanismen. Die Identifikation von Genen, welche am Gedächtnis beteiligt sind, sowie die

Charakterisierung von Proteinen, die möglicherweise pharmakologisch beeinflusst werden können, sind in dieser Hinsicht für zukünftige Therapieansätze interessant.

Innerhalb dieser Arbeit konnte eine signifikante Assoziation des Polymorphismus rs16118 des NPY Gens mit der Gedächtnisleistung nachgewiesen werden. Daher liegt die Vermutung nahe, dass das NPY-Gen ein mögliches Kandidatengen für spezifische Gedächtnisleistungen ist. Träger des C-Allels zeigten in dieser Studie signifikant bessere Leistungen als Träger des G-Allels. Zusammenfassend und gemeinsam mit der Hypothese betrachtet, dass das Gedächtnis bei Schizophreniepatienten mit betroffen ist, lässt sich die Vermutung aufstellen, dass das NPY auf genetischer Ebene Einfluss auf das verbale Gedächtnis haben könnte und möglicherweise für die reduzierte Gedächtnisleistung bei Schizophrenie mitverantwortlich sein kann. Weitere Untersuchungen mit anderen SNPs sind nötig, um dies zu verifizieren, v.a. da keine Assoziation des SNPs mit der Schizophrenie gezeigt werden konnte.

In weiteren Studien müsste untersucht werden, inwieweit sich der Polymorphismus rs16118 auf die Genexpression und Neuropeptidausschüttung und -aktivität auswirkt. Es ist wahrscheinlich, dass nicht allein der Polymorphismus rs16118 ursächlich für die beschriebenen Effekte ist, sondern weitere Kofaktoren eine Rolle spielen könnten. Dies ist auch deshalb zu vermuten, weil der in dieser Arbeit untersuchte Polymorphismus außerhalb des Gens liegt und unklar ist, ob er einen Einfluss auf die Genexpression hat. Zukünftige Assoziationsstudien mit Polymorphismen aus dem NPY-Gen wären wünschenswert, um valide Aussagen zur Assoziation des NPY-Gens mit Gedächtnis und Schizophrenie sowie den Gedächtnisdefiziten bei Schizophrenie treffen zu können. Wichtig wäre v.a., dass auch funktionelle SNPs dabei untersucht werden.

Da eine Assoziation des NPY-Gens mit dem Gedächtnis bereits nachgewiesen werden konnte, und in der vorliegenden Untersuchung dieser Zusammenhang auf molekulargenetischer Ebene replizierbar war, sollte dies in zukünftigen Studien weiter überprüft werden. Darüberhinaus wäre ein Zieltarget weiterer Untersuchungen basierend auf diesen Ergebnissen vor allem das verbale Gedächtnis bzw. auch das räumliche Gedächtnis.

Um die Ergebnisse vergleichen zu können und allgemeingültige Aussagen zu generieren, ist es notwendig, Untersuchungen in gleichen und unterschiedlichen ethnischen Populationen durchzuführen. Studien, welche die Replikation des SNP in derselben Populationsgruppe verifizieren, verringern die Wahrscheinlichkeit falsch-positiver Assoziation. Studien an anderen Populationen mit diesem SNP könnten zeigen, ob dieser populationsunabhängig ist oder spezifisch in der europäischen Bevölkerungsgruppe für die Assoziation zu Gedächtnisleistungen verantwortlich ist.

Es wäre interessant, schizophrene Patienten genomweit zu analysieren, um dabei weitere mögliche Polymorphismen, die das Gedächtnis bei der Schizophrenie beeinflussen, zu untersuchen.

Langfristig könnten sich aus dieser Grundlagenforschung auch therapeutische Konsequenzen bei psychiatrischen Erkrankungen im Allgemeinen und bei der Schizophrenie im Speziellen ergeben.

Zusammenfassung

Allgemeine kognitive Fähigkeiten und speziell Gedächtnisfunktionen sind zu einem wichtigen Teil genetisch determiniert. In früheren Arbeiten konnte ein Einfluss des Neuropeptids Y (NPY) auf das Gedächtnis sowohl in tierexperimentellen als auch in humanen Untersuchungen gezeigt werden. Die Schizophrenie ist eine bedeutende psychiatrische Erkrankung, die neben anderen schwer beeinträchtigenden Symptomen wie z.B. Wahn, mit kognitiven Defiziten einhergeht. Dies betrifft auch Gedächtnisfunktionen, wie z.B. das verbale aber auch das visuelle Gedächtnis. Ein pathophysiologischer Ansatz hierfür ist ein veränderter zerebraler Neurotransmitter-Metabolismus. Neben Dopamin scheint bei Schizophrenie auch dem NPY metabolisch eine bedeutende Rolle zuzukommen, worauf mehrere tierexperimentelle Studien hinweisen.

Die beschriebenen Grundlagen, dass die Schizophrenie einerseits häufig mit Gedächtnisdefiziten verbunden ist, Gedächtnisdefizite mit NPY sowie mit dem NPY-Gen assoziiert sind und die Hypothese, dass das NPY-Gen Gedächtnisleistungen beeinflusst, ließen es sinnvoll erscheinen, eine mögliche Assoziation zwischen einem Einzelbasenpolymorphismus (engl. *single nucleotide polymorphism*, SNP) des NPY-Gens (rs16118) und der Gedächtnisleistung zu untersuchen. Es wurden hierzu in dieser Arbeit Gedächtnisleistungen auf verschiedenen Ebenen mittels der Wechsler Memory Scale-Revised (WMS-R) bei einer Gruppe aus 108 schizophrenen Patienten und 222 gesunden Kontrollprobanden untersucht und die jeweiligen Ergebnisse unter den Genotypen und Allelen miteinander verglichen. Dazu wurden die Kontrollen und Patienten an dem SNP rs16118 des NPY-Gens genotypisiert. Der Faktor „schizophren“ bzw. „nicht psychisch erkrankt“ wurde in die Statistik als Cofaktor miteinbezogen.

Es konnte zusammenfassend in dieser Arbeit gezeigt werden, dass für die Allelverteilung im Untertest Verbale Paarerkenntnis I des WMS-R Probanden mit dem C-Allel signifikant bessere Leistungen erzielten. In den Leistungsaspekten Verbales Gedächtnis, Allgemeines Gedächtnis und Verzögertes Gedächtnis bestand zumindest ein Trend zu besseren Leistungen für Probanden mit dem C-Allel. Eine

Assoziation des rs16118 Polymorphismus mit einzelnen Aspekten der Gedächtnisleistung kann somit vermutet werden, Replikationen in größeren Stichproben sind aber erforderlich. Hinsichtlich der Genotypverteilung zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen Schizophrenen und gesunden Probanden. Es konnte keine Assoziation des rs16118 und der Schizophrenie nachgewiesen werden.

Es ist unklar, inwiefern der SNP ursächlich für die genannten Ergebnisse ist. In dem SNP rs16118 wird die Base Guanin (G) durch die Base Cytosin (C) ersetzt. Seine Funktion ist bisher unbekannt, da er außerhalb des das Peptid kodierenden Genbereichs liegt. Eine Annahme besteht darin, dass sich die NPY-Genexpression und daher auch die NPY-Aktivität verändert haben könnte. Möglicherweise steht der Polymorphismus rs16118 aber auch mit einem anderen Polymorphismus im Kopplungsungleichgewicht.

Das Ergebnis dieser Arbeit kann Anstoß zu weiteren Forschungsarbeiten über den Einfluss des NPY-Gens auf Gedächtnisleistungen bei psychischen Erkrankungen geben.

Literaturverzeichnis

- Abarbanel, H.D., Gibb, L., Huerta, R. & Rabinovich, M.I. (2003) Biophysical model of synaptic plasticity dynamics. *Biol Cybern*, **89**, 214-226.
- Aleman, A., Hijman, R., de Haan, E.H. & Kahn, R.S. (1999) Memory impairment in schizophrenia: a meta-analysis. *Am J Psychiatry*, **156**, 1358-1366.
- Allen, Y.S., Adrian, T.E., Allen, J.M., Tatemoto, K., Crow, T.J., Bloom, S.R. & Polak, J.M. (1983) Neuropeptide Y distribution in the rat brain. *Science*, **221**, 877-879.
- Ando, J., Ono, Y. & Wright, M.J. (2001) Genetic structure of spatial and verbal working memory. *Behav Genet*, **31**, 615-624.
- Andrews, P.C., Hawke, D., Shively, J.E. & Dixon, J.E. (1985) A nonamidated peptide homologous to porcine peptide YY and neuropeptide YY. *Endocrinology*, **116**, 2677-2681.
- Arnsten, A.F.T. & Robbins, T.V. (2002) Neurochemical modulation of prefrontal cortical function in humans and animals. In Stuss, D.T., Knight, R.T. (eds) *Principles of frontal lobe function*. Oxford University Press, pp. 51-84.
- Asthana, S., Noble, W.S., Kryukov, G., Grant, C.E., Sunyaev, S. & Stamatoyannopoulos, J.A. (2007) Widely distributed noncoding purifying selection in the human genome. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **104**, 12410-12415.
- Axmacher, N., Elger, C.E. & Fell, J. (2008) Memory formation by refinement of neural representations: the inhibition hypothesis. *Behav Brain Res*, **189**, 1-8.
- Baddeley, A. (1998) Working memory. *C R Acad Sci III*, **321**, 167-173.
- Baddeley, A. (2000) The episodic buffer: a new component of working memory? *Trends Cogn Sci*, **4**, 417-423.
- Bai, J., He, F., Novikova, S.I., Undie, A.S., Dracheva, S., Haroutunian, V. & Lidow, M.S. (2004) Abnormalities in the dopamine system in schizophrenia may lie in altered levels of dopamine receptor-interacting proteins. *Biol Psychiatry*, **56**, 427-440.
- Beaudet, A.L. & Belmont, J.W. (2008) Array-based DNA diagnostics: let the revolution begin. *Annu Rev Med*, **59**, 113-129.
- Berrettini, W.H., Doran, A.R., Kelsoe, J., Roy, A. & Pickar, D. (1987) Cerebrospinal fluid neuropeptide Y in depression and schizophrenia. *Neuropsychopharmacology*, **1**, 81-83.

- Bilder, R.M., Goldman, R.S., Robinson, D., Reiter, G., Bell, L., Bates, J.A., Pappadopulos, E., Willson, D.F., Alvir, J.M., Woerner, M.G., Geisler, S., Kane, J.M. & Lieberman, J.A. (2000) Neuropsychology of first-episode schizophrenia: initial characterization and clinical correlates. *Am J Psychiatry*, **157**, 549-559.
- Bleuler, E. (1911) *Dementia praecox oder die Gruppe der Schizophrenien*. *Handbuch der Psychiatrie*; Aschaffenburg G. (Hrsg.); Deuticke- Verlag, Leipzig.
- Boddeker, I. & Ziegler, A. (2000) [Association and linkage studies for the analysis of candidate genes]. *Dtsch Med Wochenschr*, **125**, 810-815.
- Bourque, F., van der Ven, E. & Malla, A. (2011) A meta-analysis of the risk for psychotic disorders among first- and second-generation immigrants. *Psychol Med*, **41**, 897-910.
- Boydell, J., van Os, J., McKenzie, K., Allardyce, J., Goel, R., McCreadie, R.G. & Murray, R.M. (2001) Incidence of schizophrenia in ethnic minorities in London: ecological study into interactions with environment. *Bmj*, **323**, 1336-1338.
- Braff, D.L., Heaton, R., Kuck, J., Cullum, M., Moranville, J., Grant, I. & Zisook, S. (1991) The generalized pattern of neuropsychological deficits in outpatients with chronic schizophrenia with heterogeneous Wisconsin Card Sorting Test results. *Arch Gen Psychiatry*, **48**, 891-898.
- Breier, A., Su, T.P., Saunders, R., Carson, R.E., Kolachana, B.S., de Bartolomeis, A., Weinberger, D.R., Weisenfeld, N., Malhotra, A.K., Eckelman, W.C. & Pickar, D. (1997) Schizophrenia is associated with elevated amphetamine-induced synaptic dopamine concentrations: evidence from a novel positron emission tomography method. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **94**, 2569-2574.
- Brown, A.S. (2011) The environment and susceptibility to schizophrenia. *Prog Neurobiol*, **93**, 23-58.
- Buckland, P.R., Hoogendoorn, B., Guy, C.A., Coleman, S.L., Smith, S.K., Buxbaum, J.D., Haroutunian, V. & O'Donovan, M.C. (2004) A high proportion of polymorphisms in the promoters of brain expressed genes influences transcriptional activity. *Biochim Biophys Acta*, **1690**, 238-249.
- Cai, J.X. & Arnsten, A.F. (1997) Dose-dependent effects of the dopamine D1 receptor agonists A77636 or SKF81297 on spatial working memory in aged monkeys. *J Pharmacol Exp Ther*, **283**, 183-189.
- Calabrese, P. (1997) Klinisch neuropsychologische Gedächtnisdiagnostik. Grundlagen und Verfahren. In Markowitsch H.J. (1997), *Enzyklopädie der Psychologie*. Verlag für Psychologie, Hogrefe, Göttingen., pp. 1052-1113.
- Calabrese, P. & Markowitsch, H.J. (2003) [Memory and brain--neurobiological correlates of memory disturbances]. *Fortschr Neurol Psychiatr*, **71**, 211-219.

- Calev, A., Venables, P.H. & Monk, A.F. (1983) Evidence for distinct verbal memory pathologies in severely and mildly disturbed schizophrenics. *Schizophr Bull*, **9**, 247-264.
- Cannon, M., Jones, P.B. & Murray, R.M. (2002) Obstetric complications and schizophrenia: historical and meta-analytic review. *Am J Psychiatry*, **159**, 1080-1092.
- Cannon, T.D., Kaprio, J., Lonnqvist, J., Huttunen, M. & Koskenvuo, M. (1998) The genetic epidemiology of schizophrenia in a Finnish twin cohort. A population-based modeling study. *Arch Gen Psychiatry*, **55**, 67-74.
- Cannon, T.D., van Erp, T.G., Bearden, C.E., Loewy, R., Thompson, P., Toga, A.W., Huttunen, M.O., Keshavan, M.S., Seidman, L.J. & Tsuang, M.T. (2003) Early and late neurodevelopmental influences in the prodrome to schizophrenia: contributions of genes, environment, and their interactions. *Schizophr Bull*, **29**, 653-669.
- Cantor-Graae, E. & Selten, J.P. (2005) Schizophrenia and migration: a meta-analysis and review. *Am J Psychiatry*, **162**, 12-24.
- Cardno, A.G., Marshall, E.J., Coid, B., Macdonald, A.M., Ribchester, T.R., Davies, N.J., Venturi, P., Jones, L.A., Lewis, S.W., Sham, P.C., Gottesman, II, Farmer, A.E., McGuffin, P., Reveley, A.M. & Murray, R.M. (1999) Heritability estimates for psychotic disorders: the Maudsley twin psychosis series. *Arch Gen Psychiatry*, **56**, 162-168.
- Carlsson, A. (1978) Antipsychotic drugs, neurotransmitters, and schizophrenia. *Am J Psychiatry*, **135**, 165-173.
- Carvajal, C.C., Vercauteren, F., Dumont, Y., Michalkiewicz, M. & Quirion, R. (2004) Aged neuropeptide Y transgenic rats are resistant to acute stress but maintain spatial and non-spatial learning. *Behav Brain Res*, **153**, 471-480.
- Censits, D.M., Ragland, J.D., Gur, R.C. & Gur, R.E. (1997) Neuropsychological evidence supporting a neurodevelopmental model of schizophrenia: a longitudinal study. *Schizophr Res*, **24**, 289-298.
- Chan, A.S., Kwok, I.C., Chiu, H., Lam, L., Pang, A. & Chow, L.Y. (2000) Memory and organizational strategies in chronic and acute schizophrenic patients. *Schizophr Res*, **41**, 431-445.
- Chang, R.S., Lotti, V.J., Chen, T.B., Cerino, D.J. & Kling, P.J. (1985) Neuropeptide Y (NPY) binding sites in rat brain labeled with 125I-Bolton-Hunter NPY: comparative potencies of various polypeptides on brain NPY binding and biological responses in the rat vas deferens. *Life Sci*, **37**, 2111-2122.

- Chronwall, B.M., DiMaggio, D.A., Massari, V.J., Pickel, V.M., Ruggiero, D.A. & O'Donohue, T.L. (1985) The anatomy of neuropeptide-Y-containing neurons in rat brain. *Neuroscience*, **15**, 1159-1181.
- Cirillo, M.A. & Seidman, L.J. (2003) Verbal declarative memory dysfunction in schizophrenia: from clinical assessment to genetics and brain mechanisms. *Neuropsychol Rev*, **13**, 43-77.
- Clark, J.T., Kalra, P.S., Crowley, W.R. & Kalra, S.P. (1984) Neuropeptide Y and human pancreatic polypeptide stimulate feeding behavior in rats. *Endocrinology*, **115**, 427-429.
- Cloninger, C.R. (2002) The discovery of susceptibility genes for mental disorders. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **99**, 13365-13367.
- Colmers, W.F. & Bleakman, D. (1994) Effects of neuropeptide Y on the electrical properties of neurons. *Trends Neurosci*, **17**, 373-379.
- Cowan, N. (2001) The magical number 4 in short-term memory: a reconsideration of mental storage capacity. *Behav Brain Sci*, **24**, 87-114; discussion 114-185.
- Cowan, N. (2008) What are the differences between long-term, short-term, and working memory? *Prog Brain Res*, **169**, 323-338.
- Cowan, N., Elliott, E.M., Scott Sauls, J., Morey, C.C., Mattox, S., Hismjatullina, A. & Conway, A.R. (2005) On the capacity of attention: its estimation and its role in working memory and cognitive aptitudes. *Cogn Psychol*, **51**, 42-100.
- Davies, G., Welham, J., Chant, D., Torrey, E.F. & McGrath, J. (2003) A systematic review and meta-analysis of Northern Hemisphere season of birth studies in schizophrenia. *Schizophr Bull*, **29**, 587-593.
- DSM-IV (1994) Diagnostic and Statistical Manual. American Psychiatric Association, 4. Revision.
- Duan, S., Gao, R., Xing, Q., Du, J., Liu, Z., Chen, Q., Wang, H., Feng, G. & He, L. (2005) A family-based association study of schizophrenia with polymorphisms at three candidate genes. *Neurosci Lett*, **379**, 32-36.
- Dudai, Y. (2004) The neurobiology of consolidations, or, how stable is the engram? *Annu Rev Psychol*, **55**, 51-86.
- Dumont, Y., Martel, J.C., Fournier, A., St-Pierre, S. & Quirion, R. (1992) Neuropeptide Y and neuropeptide Y receptor subtypes in brain and peripheral tissues. *Prog Neurobiol*, **38**, 125-167.
- Eaton, W.W., Mortensen, P.B. & Frydenberg, M. (2000) Obstetric factors, urbanization and psychosis. *Schizophr Res*, **43**, 117-123.

- Farmer, A.E., McGuffin, P. & Gottesman, II (1987) Twin concordance for DSM-III schizophrenia. Scrutinizing the validity of the definition. *Arch Gen Psychiatry*, **44**, 634-641.
- Fletcher, P.C. & Henson, R.N. (2001) Frontal lobes and human memory: insights from functional neuroimaging. *Brain*, **124**, 849-881.
- Flood, J.F., Baker, M.L., Hernandez, E.N. & Morley, J.E. (1989) Modulation of memory processing by neuropeptide Y varies with brain injection site. *Brain Res*, **503**, 73-82.
- Flood, J.F., Hernandez, E.N. & Morley, J.E. (1987) Modulation of memory processing by neuropeptide Y. *Brain Res*, **421**, 280-290.
- Flood, J.F. & Morley, J.E. (1989) Dissociation of the effects of neuropeptide Y on feeding and memory: evidence for pre- and postsynaptic mediation. *Peptides*, **10**, 963-966.
- Folstein, M.F., Folstein, S.E. & McHugh, P.R. (1990) *Mini- Mental- Status-Test (MMST)*. Beltz Testgesellschaft, Weinheim.
- Frankland, P.W. & Bontempi, B. (2005) The organization of recent and remote memories. *Nat Rev Neurosci*, **6**, 119-130.
- Frederiksen, S.O., Ekman, R., Gottfries, C.G., Widerlov, E. & Jonsson, S. (1991) Reduced concentrations of galanin, arginine vasopressin, neuropeptide Y and peptide YY in the temporal cortex but not in the hypothalamus of brains from schizophrenics. *Acta Psychiatr Scand*, **83**, 273-277.
- Freund, T.F. (2003) Interneuron Diversity series: Rhythm and mood in perisomatic inhibition. *Trends Neurosci*, **26**, 489-495.
- Fried, G., Terenius, L., Hokfelt, T. & Goldstein, M. (1985) Evidence for differential localization of noradrenaline and neuropeptide Y in neuronal storage vesicles isolated from rat vas deferens. *J Neurosci*, **5**, 450-458.
- Fuhlendorff, J., Johansen, N.L., Melberg, S.G., Thogersen, H. & Schwartz, T.W. (1990) The antiparallel pancreatic polypeptide fold in the binding of neuropeptide Y to Y1 and Y2 receptors. *J Biol Chem*, **265**, 11706-11712.
- Galletly, C. (2009) Recent advances in treating cognitive impairment in schizophrenia. *Psychopharmacology (Berl)*, **202**, 259-273.
- Gerald, C., Walker, M.W., Criscione, L., Gustafson, E.L., Batzl-Hartmann, C., Smith, K.E., Vaysse, P., Durkin, M.M., Laz, T.M., Linemeyer, D.L., Schaffhauser, A.O., Whitebread, S., Hofbauer, K.G., Taber, R.I., Branchek, T.A. & Weinshank, R.L. (1996) A receptor subtype involved in neuropeptide-Y-induced food intake. *Nature*, **382**, 168-171.

- Gold, J.M. (2004) Cognitive deficits as treatment targets in schizophrenia. *Schizophr Res*, **72**, 21-28.
- Gold, J.M., Randolph, C., Carpenter, C.J., Goldberg, T.E. & Weinberger, D.R. (1992) Forms of memory failure in schizophrenia. *J Abnorm Psychol*, **101**, 487-494.
- Goldberg, T.E., Hyde, T.M., Kleinman, J.E. & Weinberger, D.R. (1993a) Course of schizophrenia: neuropsychological evidence for a static encephalopathy. *Schizophr Bull*, **19**, 797-804.
- Goldberg, T.E., Torrey, E.F., Gold, J.M., Ragland, J.D., Bigelow, L.B. & Weinberger, D.R. (1993b) Learning and memory in monozygotic twins discordant for schizophrenia. *Psychol Med*, **23**, 71-85.
- Goldman-Rakic, P.S. (1996) Regional and cellular fractionation of working memory. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **93**, 13473-13480.
- Gottesman, II, McGuffin, P. & Farmer, A.E. (1987) Clinical genetics as clues to the "real" genetics of schizophrenia (a decade of modest gains while playing for time). *Schizophr Bull*, **13**, 23-47.
- Gray, T.S. & Morley, J.E. (1986) Neuropeptide Y: anatomical distribution and possible function in mammalian nervous system. *Life Sci*, **38**, 389-401.
- Gur, R.E., Calkins, M.E., Gur, R.C., Horan, W.P., Nuechterlein, K.H., Seidman, L.J. & Stone, W.S. (2007) The Consortium on the Genetics of Schizophrenia: neurocognitive endophenotypes. *Schizophr Bull*, **33**, 49-68.
- Hansel, D.E., Eipper, B.A. & Ronnett, G.V. (2001) Neuropeptide Y functions as a neuroproliferative factor. *Nature*, **410**, 940-944.
- Harrison, G., Glazebrook, C., Brewin, J., Cantwell, R., Dalkin, T., Fox, R., Jones, P. & Medley, I. (1997) Increased incidence of psychotic disorders in migrants from the Caribbean to the United Kingdom. *Psychol Med*, **27**, 799-806.
- Härting, C., Markowitsch, H.J., Deisinger, K. & Kessler, J. (2000) *WMS-R. Wechsler Gedächtnistest - Revidierte Fassung*. Verlag Hans Huber, Bern Göttingen Toronto Seattle.
- Harvey, P.D. & Keefe, R.S. (2001) Studies of cognitive change in patients with schizophrenia following novel antipsychotic treatment. *Am J Psychiatry*, **158**, 176-184.
- Harvey, P.D., Parrella, M., White, L., Mohs, R.C., Davidson, M. & Davis, K.L. (1999) Convergence of cognitive and adaptive decline in late-life schizophrenia. *Schizophr Res*, **35**, 77-84.
- Haworth, C.M. & Plomin, R. (2010) Quantitative genetics in the era of molecular genetics: learning abilities and disabilities as an example. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*, **49**, 783-793.

- Heaton, R.K., Gladsjo, J.A., Palmer, B.W., Kuck, J., Marcotte, T.D. & Jeste, D.V. (2001) Stability and course of neuropsychological deficits in schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry*, **58**, 24-32.
- Heilig, M. (1993) Neuropeptide Y in relation to behavior and psychiatric disorders. In Colmers, W.F., Wahlestedt, C. (eds) *The biology of Neuropeptide Y and related peptides*. Humana Press, Totowa, pp. 511-554.
- Heilig, M., McLeod, S., Brot, M., Heinrichs, S.C., Menzaghi, F., Koob, G.F. & Britton, K.T. (1993) Anxiolytic-like action of neuropeptide Y: mediation by Y1 receptors in amygdala, and dissociation from food intake effects. *Neuropsychopharmacology*, **8**, 357-363.
- Heilig, M., McLeod, S., Koob, G.K. & Britton, K.T. (1992) Anxiolytic-like effect of neuropeptide Y (NPY), but not other peptides in an operant conflict test. *Regul Pept*, **41**, 61-69.
- Heilig, M. & Thorsell, A. (2002) Brain neuropeptide Y (NPY) in stress and alcohol dependence. *Rev Neurosci*, **13**, 85-94.
- Heinrichs, R.W. & Zakzanis, K.K. (1998) Neurocognitive deficit in schizophrenia: a quantitative review of the evidence. *Neuropsychology*, **12**, 426-445.
- Helmstaedter, C., Lendt, M. & Lux, S. (2001) VLMT- Verbaler Lern- und Merkfähigkeitstest. *1. Auflage*.
- Hettema, J.M., Walsh, D. & Kendler, K.S. (1996) Testing the effect of season of birth on familial risk for schizophrenia and related disorders. *Br J Psychiatry*, **168**, 205-209.
- Hill, S.K., Schuepbach, D., Herbener, E.S., Keshavan, M.S. & Sweeney, J.A. (2004) Pretreatment and longitudinal studies of neuropsychological deficits in antipsychotic-naïve patients with schizophrenia. *Schizophr Res*, **68**, 49-63.
- Hoff, A.L., Riordan, H., O'Donnell, D.W., Morris, L. & DeLisi, L.E. (1992) Neuropsychological functioning of first-episode schizophreniform patients. *Am J Psychiatry*, **149**, 898-903.
- Hultman, C.M., Ohman, A., Cnattingius, S., Wieselgren, I.M. & Lindstrom, L.H. (1997) Prenatal and neonatal risk factors for schizophrenia. *Br J Psychiatry*, **170**, 128-133.
- ICD-10 (1992) International Classification of Diseases. WHO, 1992. Deutsche Ausgabe: Internationale Klassifikation psychischer Störungen. WHO, 1994.
- Ikeda, K., Ikeda, K., Iritani, S., Ueno, H. & Niizato, K. (2004) Distribution of neuropeptide Y interneurons in the dorsal prefrontal cortex of schizophrenia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, **28**, 379-383.

- Ingenhoven, N. & Beck-Sickinger, A.G. (1999) Molecular characterization of the ligand-receptor interaction of neuropeptide Y. *Curr Med Chem*, **6**, 1055-1066.
- Inoue, Y., Shinkai, T., Utsunomiya, K., Sakata, S., Fukunaka, Y., Yamaguchi, W., Yamada, K., Chen, H.I., Hwang, R., Ohmori, O. & Nakamura, J. (2009) No association between a functional polymorphism in the promoter region of the neuropeptide Y gene (-485C>T) and schizophrenia. *Neurosci Lett*, **452**, 72-74.
- Iritani, S., Kuroki, N., Niizato, K. & Ikeda, K. (2000) Morphological changes in neuropeptide Y-positive fiber in the hippocampal formation of schizophrenics. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, **24**, 241-249.
- Itokawa, M., Arai, M., Kato, S., Ogata, Y., Furukawa, A., Haga, S., Ujike, H., Sora, I., Ikeda, K. & Yoshikawa, T. (2003) Association between a novel polymorphism in the promoter region of the neuropeptide Y gene and schizophrenia in humans. *Neurosci Lett*, **347**, 202-204.
- Johansson, B., Whitfield, K., Pedersen, N.L., Hofer, S.M., Ahern, F. & McClearn, G.E. (1999) Origins of individual differences in episodic memory in the oldest-old: a population-based study of identical and same-sex fraternal twins aged 80 and older. *J Gerontol B Psychol Sci Soc Sci*, **54**, P173-179.
- Kalra, S.P., Dube, M.G., Pu, S., Xu, B., Horvath, T.L. & Kalra, P.S. (1999) Interacting appetite-regulating pathways in the hypothalamic regulation of body weight. *Endocr Rev*, **20**, 68-100.
- Kandel, E.R. (2001) The molecular biology of memory storage: a dialogue between genes and synapses. *Science*, **294**, 1030-1038.
- Karl, T., Chesworth, R., Duffy, L. & Herzog, H. (2009) Schizophrenia-relevant behaviours in a genetic mouse model for Y2 deficiency. *Behav Brain Res*.
- Karl, T., Duffy, L. & Herzog, H. (2008) Behavioural profile of a new mouse model for NPY deficiency. *Eur J Neurosci*, **28**, 173-180.
- Karl, T. & Herzog, H. (2007) Behavioral profiling of NPY in aggression and neuropsychiatric diseases. *Peptides*, **28**, 326-333.
- Kask, A., Harro, J., von Horsten, S., Redrobe, J.P., Dumont, Y. & Quirion, R. (2002) The neurocircuitry and receptor subtypes mediating anxiolytic-like effects of neuropeptide Y. *Neurosci Biobehav Rev*, **26**, 259-283.
- Kay, S.R., Fiszbein, A. & Opler, L.A. (1987) The positive and negative syndrome scale (PANSS) for schizophrenia. *Schizophr Bull*, **13**, 261-276.
- Keefe, R.S. & Fenton, W.S. (2007) How should DSM-V criteria for schizophrenia include cognitive impairment? *Schizophr Bull*, **33**, 912-920.
- Kendler, K.S. & Diehl, S.R. (1993) The genetics of schizophrenia: a current, genetic-epidemiologic perspective. *Schizophr Bull*, **19**, 261-285.

- Kendler, K.S. & Gardner, C.O. (1997) The risk for psychiatric disorders in relatives of schizophrenic and control probands: a comparison of three independent studies. *Psychol Med*, **27**, 411-419.
- Kendler, K.S., Gruenberg, A.M. & Kinney, D.K. (1994) Independent diagnoses of adoptees and relatives as defined by DSM-III in the provincial and national samples of the Danish Adoption Study of Schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry*, **51**, 456-468.
- Kerkerian, L., Bosler, O., Pelletier, G. & Nieoullon, A. (1986) Striatal neuropeptide Y neurones are under the influence of the nigrostriatal dopaminergic pathway: immunohistochemical evidence. *Neurosci Lett*, **66**, 106-112.
- Kerkerian, L., Salin, P. & Nieoullon, A. (1988) Pharmacological characterization of dopaminergic influence on expression of neuropeptide Y immunoreactivity by rat striatal neurons. *Neuroscience*, **26**, 809-817.
- Kety, S.S. (1987) The significance of genetic factors in the etiology of schizophrenia: results from the national study of adoptees in Denmark. *J Psychiatr Res*, **21**, 423-429.
- Kety, S.S., Wender, P.H., Jacobsen, B., Ingraham, L.J., Jansson, L., Faber, B. & Kinney, D.K. (1994) Mental illness in the biological and adoptive relatives of schizophrenic adoptees. Replication of the Copenhagen Study in the rest of Denmark. *Arch Gen Psychiatry*, **51**, 442-455.
- Kraepelin, E. (1896) *Psychiatrie, ein Lehrbuch für Studierende und Ärzte. 5. Auflage; Barth- Verlag, Leipzig.*
- Kringlen, E. (1976) Twins--still our best method. *Schizophr Bull*, **2**, 429-433.
- Kuromitsu, J., Yokoi, A., Kawai, T., Nagasu, T., Aizawa, T., Haga, S. & Ikeda, K. (2001) Reduced neuropeptide Y mRNA levels in the frontal cortex of people with schizophrenia and bipolar disorder. *Brain Res Gene Expr Patterns*, **1**, 17-21.
- Landro, N.I. (1994) Memory function in schizophrenia. *Acta Psychiatr Scand Suppl*, **384**, 87-94.
- Larhammar, D. (1996) Evolution of neuropeptide Y, peptide YY and pancreatic polypeptide. *Regul Pept*, **62**, 1-11.
- Ledri, M., Sorensen, A.T., Erdelyi, F., Szabo, G. & Kokaia, M. (2011) Tuning afferent synapses of hippocampal interneurons by neuropeptide Y. *Hippocampus*, **21**, 198-211.
- Lewis, R. (2004) Should cognitive deficit be a diagnostic criterion for schizophrenia? *J Psychiatry Neurosci*, **29**, 102-113.

- Lieb, K. (2008) Schizophrenien und andere psychotische Störungen *Intensivkurs Psychiatrie und Psychotherapie*. Lieb, K., Frauenknecht, S., Brunnhuber, S. Urban&Fischer Verlag pp. 177-203.
- Lindberg, C., Koefoed, P., Hansen, E.S., Bolwig, T.G., Rehfeld, J.F., Mellerup, E., Jorgensen, O.S., Kessing, L.V., Werge, T., Haugbol, S., Wang, A.G. & Woldbye, D.P. (2006) No association between the -399 C > T polymorphism of the neuropeptide Y gene and schizophrenia, unipolar depression or panic disorder in a Danish population. *Acta Psychiatr Scand*, **113**, 54-58.
- Linden, D.E. (2007) The working memory networks of the human brain. *Neuroscientist*, **13**, 257-267.
- Lindner, D., Stichel, J. & Beck-Sickinger, A.G. (2008) Molecular recognition of the NPY hormone family by their receptors. *Nutrition*, **24**, 907-917.
- Loehlin, J.C. (1989) Partitioning environmental and genetic contributions to behavioral development. *Am Psychol*, **44**, 1285-1292.
- Luine, V., Bowling, D. & Hearn, M. (1990) Spatial memory deficits in aged rats: contributions of monoaminergic systems. *Brain Res*, **537**, 271-278.
- Lundberg, J.M., Rudehill, A., Sollevi, A., Fried, G. & Wallin, G. (1989) Co-release of neuropeptide Y and noradrenaline from pig spleen in vivo: importance of subcellular storage, nerve impulse frequency and pattern, feedback regulation and resupply by axonal transport. *Neuroscience*, **28**, 475-486.
- March, D., Hatch, S.L., Morgan, C., Kirkbride, J.B., Bresnahan, M., Fearon, P. & Susser, E. (2008) Psychosis and place. *Epidemiol Rev*, **30**, 84-100.
- Markowitsch, H.J. (2002) *Dem Gedächtnis auf der Spur: Vom Erinnern und Vergessen*. PRIMUS Verlag Darmstadt.
- Mathe, A.A. (1999) Neuropeptides and electroconvulsive treatment. *J Ect*, **15**, 60-75.
- McClearn, G.E., Johansson, B., Berg, S., Pedersen, N.L., Ahern, F., Petrill, S.A. & Plomin, R. (1997) Substantial genetic influence on cognitive abilities in twins 80 or more years old. *Science*, **276**, 1560-1563.
- McGaugh, J.L. (2000) Memory--a century of consolidation. *Science*, **287**, 248-251.
- McGrath, J., Saha, S., Chant, D. & Welham, J. (2008) Schizophrenia: a concise overview of incidence, prevalence, and mortality. *Epidemiol Rev*, **30**, 67-76.
- McGuffin, P., Owen, M.J. & Farmer, A.E. (1995) Genetic basis of schizophrenia. *Lancet*, **346**, 678-682.
- Meltzer, H.Y., Thompson, P.A., Lee, M.A. & Ranjan, R. (1996) Neuropsychologic deficits in schizophrenia: relation to social function and effect of antipsychotic drug treatment. *Neuropsychopharmacology*, **14**, 27S-33S.

- Michel, M.C., Beck-Sickinger, A., Cox, H., Doods, H.N., Herzog, H., Larhammar, D., Quirion, R., Schwartz, T. & Westfall, T. (1998) XVI. International Union of Pharmacology recommendations for the nomenclature of neuropeptide Y, peptide YY, and pancreatic polypeptide receptors. *Pharmacol Rev*, **50**, 143-150.
- Millar, B.C., Weis, T., Piper, H.M., Weber, M., Borchard, U., McDermott, B.J. & Balasubramaniam, A. (1991) Positive and negative contractile effects of neuropeptide Y on ventricular cardiomyocytes. *Am J Physiol*, **261**, H1727-1733.
- Miller, G.A. (1956) The magical number seven plus or minus two: some limits on our capacity for processing information. *Psychol Rev*, **63**, 81-97.
- Mishara, A.L. & Goldberg, T.E. (2004) A meta-analysis and critical review of the effects of conventional neuroleptic treatment on cognition in schizophrenia: opening a closed book. *Biol Psychiatry*, **55**, 1013-1022.
- Mohamed, S., Paulsen, J.S., O'Leary, D., Arndt, S. & Andreasen, N. (1999) Generalized cognitive deficits in schizophrenia: a study of first-episode patients. *Arch Gen Psychiatry*, **56**, 749-754.
- Möller, H.-J., Laux, G. & A., D. (2001) Schizophrenie. In Bob, A., Bob, K. (ed) *Psychiatrie und Psychotherapie, Duale Reihe*. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, pp. 134-161.
- Moritz, S., Andresen, B., Perro, C., Schickel, M., Krausz, M. & Naber, D. (2002) Neurocognitive performance in first-episode and chronic schizophrenic patients. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*, **252**, 33-37.
- Morley, J.E. & Flood, J.F. (1990) Neuropeptide Y and memory processing. *Ann N Y Acad Sci*, **611**, 226-231.
- Mossner, R., Maier, W. & Rujescu, D. (2009) [Progress in locating the genetic causes of schizophrenia.]. *Nervenarzt*, **80**, 6-11.
- Mueser, K.T. & McGurk, S.R. (2004) Schizophrenia. *Lancet*, **363**, 2063-2072.
- Munhlani, R., Hudspeth, M.J. & Hunt, S.P. (1996) The therapeutic potential of neuropeptide Y. Analgesic, anxiolytic and antihypertensive. *Drugs*, **52**, 371-389.
- Nakajima, M., Inui, A., Teranishi, A., Miura, M., Hirose, Y., Okita, M., Himori, N., Baba, S. & Kasuga, M. (1994) Effects of pancreatic polypeptide family peptides on feeding and learning behavior in mice. *J Pharmacol Exp Ther*, **268**, 1010-1014.
- NCBI (2011a) National Center for Biotechnology Information; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/4852>.

- NCBI (2011b) National Center for Biotechnology Information; http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=16118.
- Niemann, H., Sturm, W., Thöne-Otto, A. & Willmes, K. CVLT-California Verbal Learning Test. *Schufried*.
- Nuechterlein, K.H., Barch, D.M., Gold, J.M., Goldberg, T.E., Green, M.F. & Heaton, R.K. (2004) Identification of separable cognitive factors in schizophrenia. *Schizophr Res*, **72**, 29-39.
- Obuchowicz, E., Krysiak, R. & Herman, Z.S. (2004) Does neuropeptide Y (NPY) mediate the effects of psychotropic drugs? *Neurosci Biobehav Rev*, **28**, 595-610.
- Onstad, S., Skre, I., Torgersen, S. & Kringlen, E. (1991) Twin concordance for DSM-III-R schizophrenia. *Acta Psychiatr Scand*, **83**, 395-401.
- Palmer, B.W., Heaton, R.K., Paulsen, J.S., Kuck, J., Braff, D., Harris, M.J., Zisook, S. & Jeste, D.V. (1997) Is it possible to be schizophrenic yet neuropsychologically normal? *Neuropsychology*, **11**, 437-446.
- Pedersen, C.B. & Mortensen, P.B. (2001) Evidence of a dose-response relationship between urbanicity during upbringing and schizophrenia risk. *Arch Gen Psychiatry*, **58**, 1039-1046.
- Perry, W., Light, G.A., Davis, H. & Braff, D.L. (2000) Schizophrenia patients demonstrate a dissociation on declarative and non-declarative memory tests. *Schizophr Res*, **46**, 167-174.
- Peters, J., Van Kammen, D.P., Gelernter, J., Yao, J. & Shaw, D. (1990) Neuropeptide Y-like immunoreactivity in schizophrenia. Relationships with clinical measures. *Schizophr Res*, **3**, 287-294.
- Plomin, R. & Craig, I. (1997) Human behavioural genetics of cognitive abilities and disabilities. *Bioessays*, **19**, 1117-1124.
- Plomin, R., Hill, L., Craig, I.W., McGuffin, P., Purcell, S., Sham, P., Lubinski, D., Thompson, L.A., Fisher, P.J., Turic, D. & Owen, M.J. (2001) A genome-wide scan of 1842 DNA markers for allelic associations with general cognitive ability: a five-stage design using DNA pooling and extreme selected groups. *Behav Genet*, **31**, 497-509.
- Portin, P. & Alanen, Y.O. (1997) A critical review of genetic studies of schizophrenia. I. Epidemiological and brain studies. *Acta Psychiatr Scand*, **95**, 1-5.
- Powell, S.B. (2010) Models of neurodevelopmental abnormalities in schizophrenia. *Curr Top Behav Neurosci*, **4**, 435-481.

- Pritzel, M., Brand, M. & Markowitsch, H.J. (2003) *Gehirn und Verhalten: Ein Grundkurs der physiologischen Psychologie*. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, Berlin.
- Quiagen (2005) QIAamp® DNA Blood Midi/Maxi Handbook, Hilden, Germany.
- Randolph, C., Gold, J.M., Carpenter, C.J., Goldberg, T.E. & Weinberger, D.R. (1993) Implicit memory in patients with schizophrenia and normal controls: effects of task demands on susceptibility to priming. *J Clin Exp Neuropsychol*, **15**, 853-866.
- Ranganath, C., Minzenberg, M.J. & Ragland, J.D. (2008) The cognitive neuroscience of memory function and dysfunction in schizophrenia. *Biol Psychiatry*, **64**, 18-25.
- Redrobe, J.P., Dumont, Y., Fournier, A. & Quirion, R. (2002) The neuropeptide Y (NPY) Y1 receptor subtype mediates NPY-induced antidepressant-like activity in the mouse forced swimming test. *Neuropsychopharmacology*, **26**, 615-624.
- Redrobe, J.P., Dumont, Y., Herzog, H. & Quirion, R. (2003) Neuropeptide Y (NPY) Y2 receptors mediate behaviour in two animal models of anxiety: evidence from Y2 receptor knockout mice. *Behav Brain Res*, **141**, 251-255.
- Redrobe, J.P., Dumont, Y., Herzog, H. & Quirion, R. (2004) Characterization of neuropeptide Y, Y(2) receptor knockout mice in two animal models of learning and memory processing. *J Mol Neurosci*, **22**, 159-166.
- Redrobe, J.P., Dumont, Y., St-Pierre, J.A. & Quirion, R. (1999) Multiple receptors for neuropeptide Y in the hippocampus: putative roles in seizures and cognition. *Brain Res*, **848**, 153-166.
- Rice, J.P., Reich, T., Bucholz, K.K., Neuman, R.J., Fishman, R., Rochberg, N., Hesselbrock, V.M., Nurnberger, J.I., Jr., Schuckit, M.A. & Begleiter, H. (1995) Comparison of direct interview and family history diagnoses of alcohol dependence. *Alcohol Clin Exp Res*, **19**, 1018-1023.
- Richter-Levin, G. & Akirav, I. (2003) Emotional tagging of memory formation--in the search for neural mechanisms. *Brain Res Brain Res Rev*, **43**, 247-256.
- Riedel-Heller, S.G. & Angermeyer, M.C. (2000) [Ecologic distribution of mental disorders in urban areas. Review of six decades of ecologic research in psychiatry]. *Psychiatr Prax*, **27**, 214-220.
- Riley, E.M., McGovern, D., Mockler, D., Doku, V.C., S, O.C., Fannon, D.G., Tennakoon, L., Santamaria, M., Soni, W., Morris, R.G. & Sharma, T. (2000) Neuropsychological functioning in first-episode psychosis--evidence of specific deficits. *Schizophr Res*, **43**, 47-55.
- Rohkamm, R. (2003) *Taschenatlas Neurologie*. Georg Thieme Verlag, Stuttgart.

- Routtenberg, A. & Rekart, J.L. (2005) Post-translational protein modification as the substrate for long-lasting memory. *Trends Neurosci*, **28**, 12-19.
- Sakai, K., Maeda, K., Chihara, K. & Kaneda, H. (1995) Increases in cortical neuropeptide Y and somatostatin concentrations following haloperidol-depot treatment in rats. *Neuropeptides*, **29**, 157-161.
- Salin, P., Kerkerian, L. & Nieoullon, A. (1990) Expression of neuropeptide Y immunoreactivity in the rat nucleus accumbens is under the influence of the dopaminergic mesencephalic pathway. *Exp Brain Res*, **81**, 363-371.
- Sawaguchi, T. & Goldman-Rakic, P.S. (1991) D1 dopamine receptors in prefrontal cortex: involvement in working memory. *Science*, **251**, 947-950.
- Saykin, A.J., Gur, R.C., Gur, R.E., Mozley, P.D., Mozley, L.H., Resnick, S.M., Kester, D.B. & Stafiniak, P. (1991) Neuropsychological function in schizophrenia. Selective impairment in memory and learning. *Arch Gen Psychiatry*, **48**, 618-624.
- Saykin, A.J., Shtasel, D.L., Gur, R.E., Kester, D.B., Mozley, L.H., Stafiniak, P. & Gur, R.C. (1994) Neuropsychological deficits in neuroleptic naive patients with first-episode schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry*, **51**, 124-131.
- Schneider, K. (1967) Klinische Psychopathologie. 8. Auflage, Thieme- Verlag, Stuttgart.
- Schuepbach, D., Keshavan, M.S., Kmiec, J.A. & Sweeney, J.A. (2002) Negative symptom resolution and improvements in specific cognitive deficits after acute treatment in first-episode schizophrenia. *Schizophr Res*, **53**, 249-261.
- Schwartz, T.W., Fuhlendorff, J., Kjems, L.L., Kristensen, M.S., Vervelde, M., O'Hare, M., Krstenansky, J.L. & Bjornholm, B. (1990) Signal epitopes in the three-dimensional structure of neuropeptide Y. Interaction with Y1, Y2, and pancreatic polypeptide receptors. *Ann N Y Acad Sci*, **611**, 35-47.
- Seamans, J.K., Floresco, S.B. & Phillips, A.G. (1998) D1 receptor modulation of hippocampal-prefrontal cortical circuits integrating spatial memory with executive functions in the rat. *J Neurosci*, **18**, 1613-1621.
- Seeman, P., Guan, H.C. & Van Tol, H.H. (1993) Dopamine D4 receptors elevated in schizophrenia. *Nature*, **365**, 441-445.
- Seeman, P., Schwarz, J., Chen, J.F., Szechtman, H., Perreault, M., McKnight, G.S., Roder, J.C., Quirion, R., Boksa, P., Srivastava, L.K., Yanai, K., Weinshenker, D. & Sumiyoshi, T. (2006) Psychosis pathways converge via D2high dopamine receptors. *Synapse*, **60**, 319-346.
- Seeman, P., Weinshenker, D., Quirion, R., Srivastava, L.K., Bhardwaj, S.K., Grandy, D.K., Premont, R.T., Sotnikova, T.D., Boksa, P., El-Ghundi, M., O'Dowd B,

- F., George, S.R., Perreault, M.L., Mannisto, P.T., Robinson, S., Palmiter, R.D. & Talerico, T. (2005) Dopamine supersensitivity correlates with D2High states, implying many paths to psychosis. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **102**, 3513-3518.
- Seidman, L.J., Giuliano, A.J., Smith, C.W., Stone, W.S., Glatt, S.J., Meyer, E., Faraone, S.V., Tsuang, M.T. & Cornblatt, B. (2006) Neuropsychological functioning in adolescents and young adults at genetic risk for schizophrenia and affective psychoses: results from the Harvard and Hillside Adolescent High Risk Studies. *Schizophr Bull*, **32**, 507-524.
- Silva, A.P., Cavadas, C. & Grouzmann, E. (2002) Neuropeptide Y and its receptors as potential therapeutic drug targets. *Clin Chim Acta*, **326**, 3-25.
- Sorensen, A.T., Kanter-Schlifke, I., Carli, M., Balducci, C., Noe, F., During, M.J., Vezzani, A. & Kokaia, M. (2008) NPY gene transfer in the hippocampus attenuates synaptic plasticity and learning. *Hippocampus*, **18**, 564-574.
- Spearman, C. (1904) "General Intelligence", objectively determined and measured. *American Journal of Psychology*, 201-293.
- Squire, L.R. (1992) Memory and the hippocampus: a synthesis from findings with rats, monkeys, and humans. *Psychol Rev*, **99**, 195-231.
- Stanley, B.G. & Leibowitz, S.F. (1984) Neuropeptide Y: stimulation of feeding and drinking by injection into the paraventricular nucleus. *Life Sci*, **35**, 2635-2642.
- Stip, E. (1996) Memory impairment in schizophrenia: perspectives from psychopathology and pharmacotherapy. *Can J Psychiatry*, **41**, S27-34.
- Stogner, K.A. & Holmes, P.V. (2000) Neuropeptide-Y exerts antidepressant-like effects in the forced swim test in rats. *Eur J Pharmacol*, **387**, R9-10.
- Sturm, W. & Willmes, K. (1999) VLT/NVLT-Verbaler/Nonverbaler Lerntest; 1. Auflage.
- Sullivan, P.F., Kendler, K.S. & Neale, M.C. (2003) Schizophrenia as a complex trait: evidence from a meta-analysis of twin studies. *Arch Gen Psychiatry*, **60**, 1187-1192.
- Swan, G.E. & Carmelli, D. (2002) Evidence for genetic mediation of executive control: a study of aging male twins. *J Gerontol B Psychol Sci Soc Sci*, **57**, P133-143.
- Sweatt, J.D. (2001) Memory mechanisms: the yin and yang of protein phosphorylation. *Curr Biol*, **11**, R391-394.
- Tatemoto, K. (1982) Neuropeptide Y: complete amino acid sequence of the brain peptide. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **79**, 5485-5489.

- Tatemoto, K., Carlquist, M. & Mutt, V. (1982) Neuropeptide Y--a novel brain peptide with structural similarities to peptide YY and pancreatic polypeptide. *Nature*, **296**, 659-660.
- Thomas, J.R. & Ahlers, S.T. (1991) Neuropeptide-Y both improves and impairs delayed matching-to-sample performance in rats. *Pharmacol Biochem Behav*, **40**, 417-422.
- Thompson, R.F. & Kim, J.J. (1996) Memory systems in the brain and localization of a memory. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **93**, 13438-13444.
- Thorsell, A., Carlsson, K., Ekman, R. & Heilig, M. (1999) Behavioral and endocrine adaptation, and up-regulation of NPY expression in rat amygdala following repeated restraint stress. *Neuroreport*, **10**, 3003-3007.
- Thorsell, A. & Heilig, M. (2002) Diverse functions of neuropeptide Y revealed using genetically modified animals. *Neuropeptides*, **36**, 182-193.
- Thorsell, A., Michalkiewicz, M., Dumont, Y., Quirion, R., Caberlotto, L., Rimondini, R., Mathe, A.A. & Heilig, M. (2000) Behavioral insensitivity to restraint stress, absent fear suppression of behavior and impaired spatial learning in transgenic rats with hippocampal neuropeptide Y overexpression. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **97**, 12852-12857.
- Toulopoulou, T., Goldberg, T.E., Mesa, I.R., Picchioni, M., Rijdsdijk, F., Stahl, D., Cherny, S.S., Sham, P., Faraone, S.V., Tsuang, M., Weinberger, D.R., Seidman, L.J. & Murray, R.M. (2010) Impaired intellect and memory: a missing link between genetic risk and schizophrenia? *Arch Gen Psychiatry*, **67**, 905-913.
- Toulopoulou, T., Morris, R.G., Rabe-Hesketh, S. & Murray, R.M. (2003) Selectivity of verbal memory deficit in schizophrenic patients and their relatives. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, **116B**, 1-7.
- Toulopoulou, T., Picchioni, M., Rijdsdijk, F., Hua-Hall, M., Ettinger, U., Sham, P. & Murray, R. (2007) Substantial genetic overlap between neurocognition and schizophrenia: genetic modeling in twin samples. *Arch Gen Psychiatry*, **64**, 1348-1355.
- Toulopoulou, T., Quraishi, S., McDonald, C. & Murray, R.M. (2006) The Maudsley Family Study: premorbid and current general intellectual function levels in familial bipolar I disorder and schizophrenia. *J Clin Exp Neuropsychol*, **28**, 243-259.
- Townsend, L.A., Malla, A.K. & Norman, R.M. (2001) Cognitive functioning in stabilized first-episode psychosis patients. *Psychiatry Res*, **104**, 119-131.
- Tsuang, M.T., Gilbertson, M.W. & Faraone, S.V. (1991) The genetics of schizophrenia. Current knowledge and future directions. *Schizophr Res*, **4**, 157-171.

- Tsuang, M.T., Stone, W.S. & Faraone, S.V. (2001) Genes, environment and schizophrenia. *Br J Psychiatry Suppl*, **40**, s18-24.
- Veling, W., Susser, E., van Os, J., Mackenbach, J.P., Selten, J.P. & Hoek, H.W. (2008) Ethnic density of neighborhoods and incidence of psychotic disorders among immigrants. *Am J Psychiatry*, **165**, 66-73.
- Vezzani, A., Sperk, G. & Colmers, W.F. (1999) Neuropeptide Y: emerging evidence for a functional role in seizure modulation. *Trends Neurosci*, **22**, 25-30.
- Wahlestedt, C., Grundemar, L., Hakanson, R., Heilig, M., Shen, G.H., Zukowska-Grojec, Z. & Reis, D.J. (1990) Neuropeptide Y receptor subtypes, Y1 and Y2. *Ann N Y Acad Sci*, **611**, 7-26.
- Wahlestedt, C. & Reis, D.J. (1993) Neuropeptide Y-related peptides and their receptors--are the receptors potential therapeutic drug targets? *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, **33**, 309-352.
- Wang, H.S., Duan, S.W., Xing, Q.H., Du, J., Li, X.W., Xu, Y.F., Zhang, Z.Z., Wang, Y.J., Feng, G.Y. & He, L. (2005) [Association study between NPY and YWHAH gene polymorphisms and schizophrenia]. *Yi Chuan Xue Bao*, **32**, 1235-1240.
- Weinberg, D.H., Sirinathsinghji, D.J., Tan, C.P., Shiao, L.L., Morin, N., Rigby, M.R., Heavens, R.H., Rapoport, D.R., Bayne, M.L., Cascieri, M.A., Strader, C.D., Linemeyer, D.L. & MacNeil, D.J. (1996) Cloning and expression of a novel neuropeptide Y receptor. *J Biol Chem*, **271**, 16435-16438.
- Wettstein, J.G., Earley, B. & Junien, J.L. (1995) Central nervous system pharmacology of neuropeptide Y. *Pharmacol Ther*, **65**, 397-414.
- Widerlov, E., Lindstrom, L.H., Wahlestedt, C. & Ekman, R. (1988) Neuropeptide Y and peptide YY as possible cerebrospinal fluid markers for major depression and schizophrenia, respectively. *J Psychiatr Res*, **22**, 69-79.
- Wittchen, H.-U., Zaudig, M. & Fydrich, T. (1997) *Strukturiertes Klinisches Interview für DSM- IV (SKID- I und SKID- II)*. Hogrefe Verlag, Göttingen.
- Wittorf, A., Sickinger, S., Wiedemann, G. & Klingberg, S. (2008) Neurocognitive effects of atypical and conventional antipsychotic drugs in schizophrenia: a naturalistic 6-month follow-up study. *Arch Clin Neuropsychol*, **23**, 271-282.
- Xiong, Z. & Cheung, D.W. (1995) ATP-Dependent inhibition of Ca²⁺-activated K⁺ channels in vascular smooth muscle cells by neuropeptide Y. *Pflugers Arch*, **431**, 110-116.
- Yang, C.R. & Seamans, J.K. (1996) Dopamine D1 receptor actions in layers V-VI rat prefrontal cortex neurons in vitro: modulation of dendritic-somatic signal integration. *J Neurosci*, **16**, 1922-1935.

- Yannielli, P.C. & Harrington, M.E. (2001) Neuropeptide Y in the mammalian circadian system: effects on light-induced circadian responses. *Peptides*, **22**, 547-556.
- Ylstra, B., van den Ijssel, P., Carvalho, B., Brakenhoff, R.H. & Meijer, G.A. (2006) BAC to the future! or oligonucleotides: a perspective for micro array comparative genomic hybridization (array CGH). *Nucleic Acids Res*, **34**, 445-450.
- Zimbardo, P.G. & Gerrig, R.J. (1999) Lernen und Gedächtnis *Psychologie*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg New-York, pp. 205-268.

Abkürzungsverzeichnis

3-HPA	3-Hydroxypicolinsäure
A	Adenin
BP/bp	Basenpaare
C	Cytosin
Ca ²⁺	Kalzium-Ion
CCK	Cholezystokinin
CPON	C-flankierendes Peptid des NPY
CT	Computer-Tomographie
Da	Dalton
DNA	Desoxyribonukleinsäure
dATP	Desoxyadenintriphosphat
dCTP	Desoxycytosintriphosphat
dGTP	Desoxyguanintriphosphat
ddNTP	Didesoxyribonukleotidtriphosphat
df	<i>degrees of freedom</i> ; Freiheitsgrad
dNTP	Desoxynukleotidtriphosphat
DSM-IV	<i>Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fourth Edition</i>
dTTP	Desoxythymintriphosphat
EDTA	Ethylen-Diamin-Tetraacetat
F	Varianzanalyse
FHAM	Family History Assessment Module
G	Guanin
GABA	<i>γ(gamma)-aminobutyric acid</i> ; <i>γ</i> -Amino-Buttersäure
G-Protein	Guaninnucleotid-bindendes Protein
H ₂ O	Wasser
HCl	Chlorwasserstoff
hDNA	humane Desoxyribonukleinsäure
ICD-10	<i>International Classification of Diseases, tenth Edition</i>
ID	Identifikation
MALDI-TOF	<i>Mass Array Laser Desorption/Ionization Time of Flight</i>
MANCOVA	<i>Multiple Analysis of Covariance</i>
MMST	Mini-Mental-Status-Test

mRNA	messenger Ribonukleinsäure
MW	Mittelwert
NPY	Neuropeptid Y
N/n	Anzahl
nt	Nukleotid
P	<i>Probability</i> ; Wahrscheinlichkeit
PANSS	<i>Positive and Negative Symptome Scale</i>
PC	Prohormon-Convertase
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i> , Polymerase-Kettenreaktion
PP	Pankreatisches Polypeptid
PPY	Pankreatisches Peptid
PYY	Peptid YY
RNA	Ribonukleinsäure
SAP	Shrimp Alkaline Phosphatase
SD	<i>Standard Deviation</i> ; Standardabweichung
SKID I	Strukturiertes Klinisches Interview, Achse I
SKID II	Strukturiertes Klinisches Interview Achse II
SNP	<i>Single Nucleotide Polymorphism</i> , Einbasenpolymorphismus
SPSS	<i>Statistical Package for Social Sciences</i>
T	Thymin
UTR	Untranslatierte Region
WMS-R	Wechsler Memory Scale-Revised
ZNS	Zentrales Nervensystem

Danksagung

Ich möchte zuerst meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. med. Dan Rujescu für die Überlassung des Themas und für die Möglichkeit in seiner Abteilung diese Promotionsarbeit durchzuführen, sowie für seine Betreuung danken.

Herrn Prof. Dr. med Hans-Jürgen Möller danke ich, dass ich diese Promotionsarbeit an der Psychiatrischen Klinik der Ludwig-Maximilians-Universität durchführen konnte.

Darüber hinaus danke ich Frau Dr. rer. biol. hum. Ina Giegling für ihre Betreuung, die Hilfe bei der Datenanalyse und statistischen Auswertung und für die stetige Unterstützung.

Frau Dr. rer. biol. hum. Annette Hartmann möchte ich ganz besonders für ihre Unterstützung bei allen labortechnischen und genetischen Angelegenheiten, das detaillierte Korrekturlesen und für ihre stetige Hilfestellung bei jeder Frage danken.

Ich bedanke mich bei allen Patienten und Kontrollprobanden für ihre Teilnahme an der Studie.

Bei meinen Mitdoktoranden möchte ich mich für die kollegiale Zusammenarbeit bedanken.

Meinen Eltern möchte ich diese Arbeit widmen und dafür danken, dass sie mir das Studium der Zahnmedizin ermöglicht haben.

Lieber Christian, zum Schluss möchte ich mich bei dir für deine ständige Hilfe und Unterstützung bedanken!